



**João Humberto Gomes de Jesus**

Licenciado em Química Aplicada à Biotecnologia

## **Extracção e caracterização de óleo essencial de sementes de *Opuntia ficus indica***

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre  
em Tecnologia e Segurança Alimentar

**Orientadora:** Professora Doutora Maria Margarida Gonçalves,  
Professora Auxiliar, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Professora Doutora Benilde Simões Mendes

Arguentes: Professora Doutora Ana Luísa Fernando

Vogais: Professora Doutora Maria Margarida Gonçalves



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Março, 2014**



**João Humberto Gomes de Jesus**

Licenciado em Química Aplicada à Biotecnologia

## **Extracção e caracterização de óleo essencial de sementes de *Opuntia ficus indica***

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre  
em Tecnologia e Segurança Alimentar

**Orientadora:** Professora Doutora Maria Margarida Gonçalves,  
Professora Auxiliar, FCT/UNL



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Março, 2014**

**Copyright – João Humberto Gomes de Jesus, FCT/UNL, UNL**

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

## AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho, foi possível graças à excelente colaboração de várias pessoas, às quais quero expressar os meus sinceros agradecimentos.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora, Professora Margarida Gonçalves, pelo auxílio e apoio que me forneceu durante a elaboração deste trabalho.

Aos meus pais, por tudo o que me têm proporcionado ao longo da minha vida e também por me incutirem todos os dias, os princípios necessários para que eu seja uma pessoa melhor e que consiga sempre alcançar aquilo que desejo.

Às minhas irmãs, por todo o ânimo e apoio demonstrado ao longo de todo este período e pela ajuda preciosa na recta final da tese.

À Sara Gonçalves, por toda a paciência, ânimo e força, que tanto se esforçou para me transmitir, sem nunca me deixar esmorecer.

À Sofia Miranda, o meu enorme obrigado pela ajuda, apoio, amizade, momentos bem passados e por todo o incentivo que sempre demonstrou.

A todas as pessoas do laboratório, que sempre me ajudaram e me apoiaram como a Ana Margarida, Maria Sapatinha, Raquel Fonseca, Catarina Nobre, Susana Santos, Joana Rodrigues, Sara Boléu, Telma Silva, Débora Melo e a todas as pessoas que trabalham no laboratório 145.

Quero agradecer igualmente a todos os meus amigos, pelo imenso apoio revelado ao longo de toda a tese, em especial à Diana Canas, Diogo Rodrigues, Marta Rico, Raquel Valente, Hugo Gomes, Patrícia Fradinho, Patrícia Ribeiro e Patrícia Cortes.

Por último, quero agradecer ao Professor João Morais, que foi o professor que mais me marcou durante toda a minha experiência académica e que, enquanto teve essa disponibilidade, sempre me ajudou a levar o melhor caminho, não só na tese, como nas cadeiras que me ministrou, como em projectos pessoais.

O meu sincero Obrigado a todos vós.

## RESUMO

A composição das sementes de três variedades de figo-da-Índia, cultivadas em Portugal, foi investigada neste trabalho. O produto foi caracterizado fisiologicamente e devidamente identificado, seguido por isolamento da semente dos frutos. Através deste processo, duas das amostras foram identificadas como *Opuntia ficus-indica* (variedades verde e laranja) e a terceira de *Opuntia dillenii*.

As sementes foram trituradas num pó fino, sendo submetidas à extracção do seu óleo, através de dois métodos distintos, utilizando cinco solventes diferentes; os ácidos gordos presentes no óleo foram caracterizados por cromatografia gasosa e espectrometria de massa.

A atividade antioxidante das sementes após a extracção do óleo foi avaliada por determinação da sua actividade antioxidante de redução férrica, a sua actividade contra um radical sintético, o DPPH, e o seu teor de fenólicos totais avaliado pelo método de Folin-Ciocalteu.

A análise por cromatografia gasosa do óleo de semente, mostrou elevadas percentagens de ácido oleico em todas as amostras variando de 20,75% a 60,65%, de ácido palmítico que variou de 3,63% a 12,21% e de ácido linoleico que variou de 1,24% a 11,76%.

A extracção a quente especialmente com éter de petróleo permite uma maior remoção de óleo mas a extracção com acetona poderá traduzir-se num óleo mais insaturado e com maior teor de compostos fenólicos.

A análise da atividade antioxidante dos resíduos das sementes, mostraram que a variedade de laranja de *Opuntia ficus-indica* foi a amostra com maior atividade residual. No futuro é necessária uma análise mais detalhada a respeito da determinação da atividade antioxidante e compostos fenólicos.

Informações fornecidas pelo presente trabalho poderão contribuir para a valorização do óleo de semente do figo de piteira e utilização industrial das sementes desta fruta como matéria-prima na produção de óleos, aditivos para rações animais e alimentos funcionais.

Palavras Chave: Figo-da-Índia; *Opuntia ficus-indica*; *Opuntia dillenii*; óleo de semente; ácidos gordos; Actividade antioxidante.

## ABSTRACT

The composition of the seeds of three varieties of cactus pear, grown in Portugal, was investigated in this work. The product was characterized physiologically and properly identified, followed by isolation of the seed of the fruit. Through this process, two of the samples were identified as *Opuntia ficus indica* (green and orange varieties) and the third sample was identified as *Opuntia dillenii*.

The seeds were ground to a fine powder and subjected to the extraction of the seed oil through two distinct methods and using five different solvents; the analysis of fatty acids present in the oil was performed using gas chromatography and mass spectrometry.

The antioxidant activity of seeds after oil extraction was evaluated by determining their antioxidant activity of ferric reduction, its activity against a synthetic radical, DPPH, and its total phenolic content measured by the Folin-Ciocalteu reaction.

The gas chromatographic analysis of the seed oil showed high proportions of oleic acid in all samples ranging from 20.75% to 60.65%, palmitic acid ranging from 3.63% to 12.21%, and linoleic acid ranging from 1.24% to 11.76%.

The Soxhlet extraction with petroleum ether allows for greater oil removal but the acetone extraction may translate into longer and more unsaturated phenolic content oil.

The analysis of the antioxidant activity of the wastes from the extraction of the seeds showed that the orange variety of *Opuntia ficus-indica* was the sample with higher residual activity. In the future a more detailed analysis regarding the determination of the antioxidant activity and phenolic compounds is required.

Information provided by this work could contribute to the valorisation of the seed oil of cactus pear and promote the industrial use of the seeds of this fruit as a raw material in the production of oils, for animal feed additives and as functional foods.

Keywords: Cactus pear; *Opuntia ficus-indica*; *Opuntia dillenii*; Seed oil; Fatty acids; antioxidant activity

# ÍNDICE DE MATÉRIAS

Capítulo 1 – Introdução .....	1
1.1. <i>Opuntia</i> .....	2
1.1.1. Enquadramento histórico .....	3
1.1.2. Descrição da fisiologia da <i>Opuntia</i> .....	4
1.1.3. Distribuição geográfica .....	6
1.1.4. Variedades de <i>Opuntia</i> .....	8
1.1.5. Descrição das características de <i>Opuntia ficus-indica</i> .....	9
1.1.6. Quantidades produzidas .....	12
1.1.7. Diversos tipos de utilização para <i>Opuntia</i> .....	14
1.1.8. Componentes bioactivos presentes em <i>Opuntia</i> .....	18
1.2. Óleos essenciais de sementes .....	21
1.2.1. Valorização de resíduos agro-alimentares .....	22
1.2.2. Composição e propriedades dos óleos de semente .....	24
1.2.2.1. Óleo de semente de uva .....	25
1.2.2.2. Óleo de semente de tomate .....	26
1.2.2.3. Óleo de semente de abóbora .....	27
1.2.2.4. Outros óleos alimentares, provenientes de sementes .....	27
1.2.3. Métodos de extracção e fraccionamento .....	28
1.2.4. Determinação do perfil de ácidos gordos dos óleos de semente .....	30
1.2.5. Composição e propriedades biológicas .....	32
das sementes de <i>Opuntia</i> e do seu óleo	
1.2.5.1. Composição geral da semente – humidade, cinzas, .....	33
gordura bruta, proteína e fibras	
1.2.5.2. Determinação do perfil de ácidos gordos presentes .....	33
nas sementes de <i>Opuntia</i>	
1.2.5.3. Propriedades biológicas .....	36
1.2.5.3.1. Actividade antiolesterémica .....	38
1.2.5.3.2. Actividade hipoglicémica .....	39
1.2.5.3.1. Actividade antioxidante .....	39
1.3. Objetivos da dissertação .....	43
 Capítulo 2 – Métodos .....	 45
2.1. Materiais, equipamentos, reagentes e solventes .....	46
2.2. Amostragem .....	47
2.3. Caracterização física do figo-da-Índia .....	47

2.4. Preparação da amostra.....	48
2.5. Análise nutricional da semente de figo-da-Índia .....	49
2.5.1. Humidade .....	49
2.5.2. Cinzas.....	49
2.5.3. Fibras.....	50
2.5.4. Gordura bruta .....	51
2.5.5. Proteína bruta.....	51
2.5.6. Hidratos de Carbono .....	52
2.6. Extracção do óleo de semente.....	52
2.6.1. Extracção Soxhelt .....	53
2.6.2. Extracção com solventes a frio .....	53
2.7. Transesterificação dos ácidos gordos do óleo de semente.....	53
2.8. Determinação do perfil de ácidos gordos do óleo de semente.....	54
2.9. Extracção de compostos fenólicos a partir do resíduo .....	55
de extracção do óleo	
2.10. Determinação da actividade antioxidante dos extratos .....	55
de resíduos de semente	
2.10.1. Método de Folin Ciocalteu.....	55
2.10.2. Método de DPPH .....	56
2.10.3. Método de FRAP .....	56
2.11. Análise estatística .....	57
Capítulo 3 – Resultados e Discussão .....	58
3.1. Caracterização fisiológica do figo-da-Índia .....	59
3.1.1. Dimensões.....	59
3.1.2. Proporções .....	60
3.1.3. Análise visual das plantas, cladódios e frutos.....	62
3.2. Caracterização da semente do figo-da-Índia .....	66
3.2.1. Dados nutricionais.....	66
3.2.2. Extracção do óleo de semente a quente e a frio.....	68
3.2.3. Composição de ácidos gordos .....	72
3.2.4. Avaliação da presença de compostos antioxidantes .....	82
no resíduo de semente	
3.2.4.1. Teste do Folin-Ciocalteu .....	82
3.2.4.2. Ensaio de redução radical DPPH .....	84
3.2.4.3. Ensaio de FRAP .....	84



Capítulo 4 – Conclusões .....	87
Referências Bibliográficas .....	88
Anexos .....	I

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Primeira ilustração conhecida de <i>Opuntia</i> spp., realizada por Gonzalo Valdés. ....	4
<b>Figura 2</b> – Imagens da <i>Opuntia ficus-indica</i> , dos seus cladódios e frutos. ....	5
<b>Figura 3</b> – Cladódio proveniente do cultivos de <i>Opuntia</i> , cujos frutos foram analisados neste trabalho. ....	6
<b>Figura 4</b> – Distribuição Mundial da <i>Opuntia</i> spp. ....	7
<b>Figura 5</b> – Distribuição geográfica de <i>Opuntia</i> , em Portugal ....	7
<b>Figura 6</b> – Imagens da planta, frutos e cladódios referentes a <i>Opuntia ficus-indica</i> , no lado esquerdo e <i>Opuntia robusta</i> , no lado direito . ....	8
<b>Figura 7</b> – Imagens da planta, frutos e cladódios referentes a <i>Opuntia phaeacantha</i> , no lado esquerdo e <i>Opuntia streptacantha</i> no lado direito . ....	8
<b>Figura 8</b> – Imagens da planta, frutos e cladódios referentes a <i>Opuntia megacantha</i> . ....	9
<b>Figura 9</b> – Imagem da planta, cladódios, flores e fruto da <i>Opuntia dillenii</i> Haw. ....	9
<b>Figura 10</b> – Diversos frutos de espécies distintas, do género <i>Opuntia</i> , utilizados neste trabalho ....	10
<b>Figura 11</b> – Fruto de <i>Opuntia ficus-indica</i> var. Laranja, com a sua epiderme repleta por diversas auréolas e espinhos. ....	11
<b>Figura 12</b> – Corte longitudinal em diferentes espécies do género <i>Opuntia</i> , utilizadas neste trabalho. ....	11
<b>Figura 13</b> – Estádios de desenvolvimento da Cochonilha: ....	15
<b>Figura 14</b> – Esquema geral, de uma fábrica alimentar ....	22
<b>Figura 15</b> – Estrutura química do $\beta$ -sitosterol ....	38
<b>Figura 16</b> – Princípio de poder de redução férrica ....	42
<b>Figura 17</b> – Principais constituintes do figo-da-Índia. ....	47
<b>Figura 18</b> – Mistura mucilagem e sementes, à esquerda da imagem, e sementes após a centrifugação e lavagem com água. ....	48
<b>Figura 19</b> – Interior dos frutos de <i>Opuntia</i> . ....	62
<b>Figura 20</b> – Comparação da distribuição e forma dos cladódios, de <i>Opuntia ficus-indica</i> , apresentados ....	63

<b>Figura 21</b> – Comparação da presença e disposição dos espinhos presentes nos cladódios .....	63
<b>Figura 22</b> – Comparação dos frutos de <i>Opuntia ficus-indica</i> , apresentados ..... na literatura (no topo), com os utilizados neste trabalho, em baixo à esquerda a variedade verde e à direita a variedade laranja (Inglese, P, 2009).	64
<b>Figura 23</b> – Comparação da distribuição e forma dos cladódios, ..... de <i>Opuntia dillenii</i> , apresentados	65
<b>Figura 24</b> – Comparação da presença e disposição dos espinhos presentes ..... nos cladódios, de <i>Opuntia dillenii</i> , apresentados na literatura, à esquerda, em relação aos utilizados neste trabalho (USDA, 2009).	65
<b>Figura 25</b> – Comparação do fruto de <i>Opuntia dillenii</i> , apresentado na literatura, ..... à esquerda, em relação aos utilizados neste trabalho (USDA, 2009).	66
<b>Figura 26</b> – Concentrações relativas dos ácidos gordos (C14:0 a C18:2), ..... nas extracções efectuadas a quente.	75
<b>Figura 27</b> – Concentrações relativas dos ácidos gordos (C20:0 a C26:0) ..... e esteróis, nas extracções efectuadas a quente.	75
<b>Figura 28</b> – Concentrações relativas dos ácidos gordos (C14:0 a C18:2), ..... nas extracções efectuadas a frio.	77
<b>Figura 29</b> – Concentrações relativas dos ácidos gordos (C20:0 a C26:0), ..... nas extracções efectuadas a frio.	77
<b>Figura 30</b> – Concentrações relativas dos ácidos gordos saturados, ..... insaturados e esteróis, nas extracções efectuadas a quente	79
<b>Figura 31</b> – Concentrações relativas dos ácidos gordos saturados, ..... insaturados e esteróis, nas extracções efectuadas a frio.	80
<b>Figura 32</b> – Cromatograma de <i>Opuntia ficus-indica</i> (variedade laranja), ..... método a quente, extrados com éter de petróleo	II
<b>Figura 33</b> – Cromatograma de <i>Opuntia ficus-indica</i> (variedade laranja), ..... método a frio, extrados com éter de petróleo	II
<b>Figura 34</b> – Cromatograma de <i>Opuntia ficus-indica</i> (variedade laranja), ..... método a quente, extrados com acetona	III

**Figura 35** – Cromatograma de *Opuntia ficus-indica* (variedade laranja), ..... III  
método a frio, extrados com acetona

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Valores estimados das áreas de cultivo e produções anuais, ..... 13 do fruto de <i>Opuntia</i> , referentes a 1995 e 2013	13
<b>Tabela 2</b> – Diversas aplicações provenientes de <i>Opuntia</i> . .... 17	17
<b>Tabela 3</b> – Diversas aplicações para os diferentes constituintes de <i>Opuntia</i> ..... 18	18
<b>Tabela 4</b> – Compostos bioactivos nas diferentes partes da <i>Opuntia</i> . .... 20	20
<b>Tabela 5</b> – Composição dos ácidos gordos presentes ..... 31 em óleos de semente de diversos frutos	31
<b>Tabela 6</b> – Comparação do óleo de sementes do figo-da-Índia, uva e algodão. .... 32	32
<b>Tabela 7</b> – Valores das análises aproximadas efetuadas às sementes ..... 33 de <i>Opuntia ficus-indica</i> e <i>Opuntia Stricta</i>	33
<b>Tabela 8</b> – Composição dos ácidos gordos presentes em óleos de semente, ..... 35 de várias espécies de <i>Opuntia</i> .	35
<b>Tabela 9</b> – Compostos bioactivos, presentes em óleos de sementes ..... 37 de quatro espécies de <i>Opuntia</i> .	37
<b>Tabela 10</b> – Dimensões das 3 amostras de figo-da-Índia analisadas. .... 59	59
<b>Tabela 11</b> – Percentagens relativas dos constituintes de <i>Opuntia</i> . .... 60	60
<b>Tabela 12</b> – Percentagens de polpa e sementes presentes nos frutos de <i>Opuntia</i> . .... 61	61
<b>Tabela 13</b> – Perfil nutricional das três amostra de figo-da-Índia analisadas. .... 67	67
<b>Tabela 14</b> – Perfis nutricionais das sementes de OFI, utilizados ..... 68 como referência e determinados experimentalmente neste trabalho.	68
<b>Tabela 15</b> – Rendimentos das diversas extrações efectuadas às sementes de <i>Opuntia</i> . .... 69	69
<b>Tabela 16</b> – Rendimentos das extrações a frio, agrupados pelas suas diferenças. .... 70 significativas, segundo o teste de Tukey.	70
<b>Tabela 17</b> – Rendimentos das extrações a quente, agrupados ..... 71 pelas suas diferenças significativas, segundo o teste de Tukey	71
<b>Tabela 18</b> – Rendimentos das extrações a quente, comparados com a literatura ..... 72	72
<b>Tabela 19</b> – Conteúdo de ácidos gordos, identificados no óleo de sementes de <i>Opuntia</i> . .... 74	74
<b>Tabela 20</b> – Concentrações relativas (%) das principais classes de ácidos gordos ..... 78 presentes no óleo, dos álcoois esterólicos totais e razão entre compostos insaturados e saturados.	78
<b>Tabela 21</b> – Comparação das concentrações relativas de ácidos gordos ..... 81 individuais obtidas neste trabalho e as determinadas por outros autores para sementes das mesma variedades do género <i>Opuntia</i> .	81
<b>Tabela 22</b> – Comparação dos teores relativos de álcoois esterólicos ..... 82 presentes nos óleos de semente extraídos neste trabalho e obtidos por outros autores.	82
<b>Tabela 23</b> – Compostos fenólicos totais, em sementes de <i>Opuntia</i> , ..... 83 determinados através do método de Folín Ciocalteau	83

<b>Tabela 24</b> – Fenólicos totais presentes em sementes de <i>Opuntia</i> .....	83
<b>Tabela 25</b> – Actividade anti-radicalar das sementes de figo-da-Índia.....	84
<b>Tabela 26</b> – Poder redutor férrico das sementes de <i>Opuntia</i> .....	85

# **CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO**

## 1.1 *Opuntia*

“ (...) como seres humanos, não só gozamos do privilégio de existir como ainda temos a extraordinária capacidade de apreciar a vida e até, de muitas maneiras diferentes, de a melhorar.”  
(Bryson, B., 2007)

A busca de espécies vegetais adequadas, capazes de crescer e se reproduzir em áreas áridas é uma preocupação permanente na maioria dos povos que habitam esses locais.

A seca é um atributo natural e normal de climas áridos e semi-áridos. As populações situadas nestas áreas sofrem regularmente grandes perdas como resultado de uma escassez de alimentos durante estes períodos (Ennouri *et al.*, 2006; Barbera *et al.*, 1995).

Existe uma necessidade de apostar em plantas que consigam sobreviver nestes ambientes, mas que também possam contribuir para a alimentação local, quer em quantidade como em qualidade. Para colmatar esta necessidade surge a exploração de diversas espécies de cactos, em particular de *Opuntia ficus-indica* (OFI) (Barbera *et al.*, 1995; Saenz, 2000).

A *Opuntia ficus-indica* e outros cactos possuem a notável qualidade de armazenar água num período de tempo razoavelmente curto e retê-la por um espaço de tempo superior, quando comparado com a grande maioria das restantes plantas.

Esta qualidade é particularmente útil, uma vez que as secas periódicas são um fenómeno que ocorre em diversos países e sua sobrevivência em climas com pouca pluviosidade é uma evidência (Saenz, 2000).

Nos dias de hoje fazem parte da paisagem natural e dos sistemas agrícolas de muitas regiões do mundo e a sua utilização é diversificada. A título de exemplo, é utilizado como alimento animal e humano, na protecção de zonas de cultivo, em áreas como a medicina e a cosmética, sendo cada vez mais valorizado e explorado (Hamou, 2007; Ennouri, 2005; Chougui, 2013).

Inicialmente tidos como plantas selvagens, os cactos do género *Opuntia* transformaram-se em culturas como muitas outras, e se forem devidamente exploradas, podem tornar-se numa fonte de variados produtos com as mais diversas funções. Estando ao dispor das populações locais para a sua subsistência, mas também a orientar-se rumo ao mercado externo (Barbera *et al.*, 1995).



### 1.1.1 Enquadramento histórico

A origem da *Opuntia* é difícil de determinar, mas existem registos de que o seu consumo remonta há pelo menos 9000 anos atrás (Anderson, 2001), estando geralmente associado ao México (Leo *et al.*, 2010).

Recentemente foi publicado um relatório pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) (FAO, 2013a), onde consta que a origem e história desta planta, está intimamente relacionada com as antigas civilizações mesoamericanas e particularmente para a cultura azteca.

Segundo este relatório, existem evidências arqueológicas que confirmam o seu cultivo por populações indígenas que se instalaram nas regiões semi-áridas da América Central.

Por volta de 1700, Tourneford atribuiu o nome científico à *Opuntia*, que advém de uma cidade grega, Opus, onde existia uma planta espinhosa com imensas semelhanças com este género de cacto (Sáenz *et al.*, 2006).

Existem 300 espécies que pertencem ao género *Opuntia* e estão distribuídos principalmente em África, na bacia do Mediterrâneo, no sudoeste norte-americano, na América Central e do Sul e Austrália (Sáenz, 2013a; Leo *et al.*, 2010).

O cacto foi surgindo ao longo dos tempos, em regiões mais áridas, tendo como principal utilização a alimentação humana, principalmente como uma fruta fresca. Com o passar do tempo, a sua utilização alargou-se igualmente a rações animais, proteção de outro cultivos e como plantas ornamentais (Hamou, 2007; Ennouri, 2005; Chougui, 2013).

Apesar das diversas espécies, apenas 10 a 12 são utilizadas para produção de alimentos e corantes (Stintzing *et al.*, 2005; Sáenz *et al.*, 2006).

Nos Estados Unidos, no início deste século, as espécies seleccionadas de *Opuntia ficus-indica* criadas por Luther Burbank apontavam para uma utilização mais generalizada na dieta de homens e animais.

Em 1911, Luther afirmou, em tons entusiastas, que este desenvolvimento prometia ser de igual valor ou superior, quando comparado com a descoberta da máquina a vapor (Nobel, 1988).

### 1.1.2. Descrição da fisiologia da *Opuntia*

A primeira descrição fisiológica da *Opuntia*, foi efectuada por um cronista do século XVI, apelidado de Gonzalo Fernández de Oviedo y Valdés, que descreveu, em “História Geral e Natural das Índias”, não só a planta, como o fruto e até que zonas da planta poderiam ser ingeridas.

Gonzalo Valdés mencionou a presença de árvores apelidadas de “nopalli”, o que significa pêra dos cactos ou árvore que produz pêras do cacto. Descreveu-a como uma enorme árvore cujo tronco é composto por ramos de folhas largas, grossas, com espinhos e com um xarope abundante e pegajoso.

A elaboração do esboço (Figura 1) efectuada pelo escritor, ajudou imenso na fraca descrição efectuada do fruto, uma vez que apenas foi mencionando a variação de cores dos frutos consoante as espécies de árvores que os produziam, bem como as folhas das árvores, que poderiam ser ingeridas cruas e cozidas, tal e qual como os frutos (Sáenz, 2013a Kiesling, 2013).

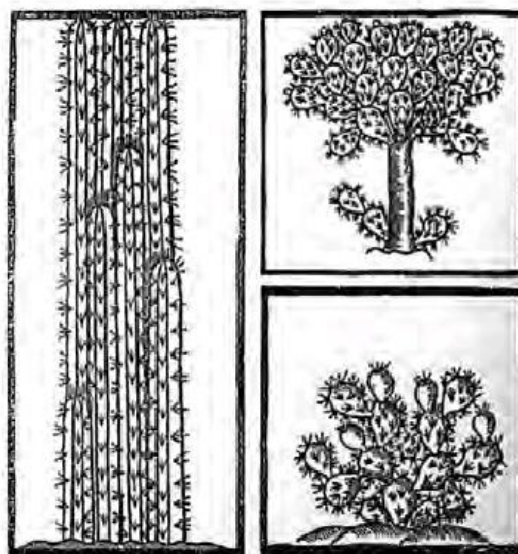


Figura 1 – Primeira ilustração conhecida de *Opuntia* spp., realizada por Gonzalo Valdé (Kiesling, 2013).

Actualmente a *Opuntia ficus-indica* (Figura 2), pertence ao reino Plantae, sub-reino Tracheobionta, superdivisão Spermatophyta, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, sub-classe Caryophyllidae, ordem Caryophyllales, família Cactaceae e ao género *Opuntia* (Sáenz *et al.*, 2006).



Figura 2 – Imagens da *Opuntia ficus-indica*, dos seus cladódios e frutos (Romano, 2013).

A *Opuntia ficus-indica* é uma planta MAC, isto é, utiliza o metabolismo do ácido das crassuláceas como via metabólica para a síntese de hidratos de carbono, caracterizada por uma elevada eficiência de utilização de água, quando comparada com as plantas C3 e C4 (Anderson, 2001).

A sua sobrevivência em condições ambientais adversas, como longos períodos de seca, altas temperaturas e solos com défices nutricionais, encontra-se relacionada com a elevada capacidade de armazenamento de água e o seu sistema radicular extenso, carnudo e muito ramificado, com distribuição horizontal que leva a um desenvolvimento de características xeromórficas (Sudzuki, 1999; Anderson, 2001).

A extensão das suas raízes está relacionada com a disponibilidade de água nos solos, adaptando-se assim a meios áridos (Sudzuki, 1999; Nobel & De la Barrera, 2003).

Tem como características uma natureza arbustiva, sem queda de folhas, com um ciclo longo de vida, apresenta um porte que varia desde o rasteiro até ao arbóreo e pode alcançar até 4 metros de altura (Gonzalez e Jarabo, 1990; Feugang *et al.*, 2006)

É constituída por uma raiz e imensos caules muito carnudos, onde é possível encontrar, dependendo da época, flores e frutos. Os seus ramos, designados de cladódios são achatados e clorofilados de cor verde (Figura 3).

A sua forma e tamanho são variáveis, sendo que o comprimento varia entre os 30 cm a 60 cm e a largura de 6 cm a 15 cm, sendo por isso mais compridos que largos (Gonzalez e Jarabo, 1990; Feugang *et al.*, 2006).



Figura 3 – Cladódio proveniente do cultivos de *Opuntia*, cujos frutos foram analisados neste trabalho.

Grande parte destas plantas possui os cladódios envoltos de espinhos, existindo, porém, algumas que não os possuem, designadas de inermes. A existência ou ausência de espinhos nos cladódios, é um atributo usualmente utilizado para identificar o ecotipo desta planta (Khales & Baaziz, 2005).

Estes espinhos são compostos por fibras celulósicas, constituídas por microfibrilas harmonizadas de forma compacta. Possuem alguns centímetros de comprimento, estando a sua superfície coberta por uma cutícula, que serve de protecção da secura (Malainine *et al.*, 2003).

A fácil dispersão através de sementes ou fragmentos vegetativos, como os segmentos do caule que se desprendem e facilmente enraízam dando origem a novas plantas, aliada à sua óptima capacidade de converter água em biomassa, são características que possibilitam a sua resistência e proliferação nos diversos meios (Nefzaoui *et al.*, 2007; Galati *et al.*, 2001; Weber, 2003).

### 1.1.3. Distribuição geográfica

A *Opuntia* ganhou relevância no México durante século XVI, pelos seus diversos usos. Durante esta época, foi descrita a invasão de outras plantas que ganharam notoriedade pelas suas diversas aplicações medicinais e alimentares, como é o caso do Aloe (Hamou, 2007).

A *Opuntia* é uma planta tropical ou subtropical, que cresce de forma selvagem em regiões áridas e semi-áridas de todo o mundo (Figura 4). Grandes áreas de cultivo são encontradas na Argélia, Chile, México e Brasil (Le Houerou, 1992; Brutsch & Zimmerman, 1995; Griffith, 2004).



Figura 4 – Distribuição Mundial da *Opuntia* spp. (Sáenz, 2013a).

Actualmente, o México é o país no qual se pode encontrar maior variabilidade genética desta planta, maior área cultivada e maior consumo de frutos (García e Silva, 2005), mas gradualmente, a sua importância económica tem crescendo, fazendo com que o seu interesse para a comunidade científica internacional também aumente.

Um país cujo interesse e investimento têm sido cada vez maiores é a Itália, mais precisamente na Sicília, onde a produção de *Opuntia ficus-indica* tem aumentado abundantemente (Ginestra *et al.*, 2009; Griffith, 2004).

Em Portugal, é considerada sub-espontânea e pode ser encontrada em valados, escarpas, vedações e sebes, encontrando-se distribuída por todo o país, exceptuando os districtos de Viana do Castelo e Porto (Berthet, 1990; Cunha *et al.*, 2003; Marchante, 2005).

Na figura 5, podemos observar quais as zonas onde existe maior concentração de *Opuntia*.

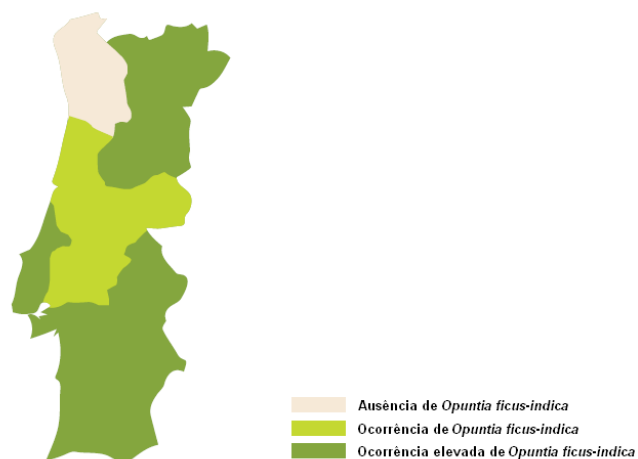


Figura 5 – Distribuição geográfica de *Opuntia*, em Portugal (Marchante, 2005).

#### 1.1.4. Variedades de *Opuntia*

Como referido anteriormente, existem cerca de 300 espécies do género *Opuntia*, que se distribuem ao longo de todo o planeta, mas apenas 10 a 12 espécies é que são utilizadas para consumo da sua fruta, cladódios, forragem ou produção do corante carmim, através da Cochonilha (Portillo & Viguera, 2013; Portillo & Viguera, 2013).

Esta diversidade, está relacionada com a sua fácil hibridação e uma vasta adaptabilidade aos diferentes solos e climas (Feugang *et al.*, 2006; Anderson, 2001).

Nas figuras 6, 7 e 8 pode-se visualizar algumas das espécies de *Opuntia* mais cultivadas a nível mundial e as espécies selvagens com maior crescimento (Sáenz, 2013a; Griffith, 2004).



Figura 6 – Imagens da planta, frutos e cladódios referentes a *Opuntia ficus-indica*, no lado esquerdo e *Opuntia robusta*, no lado direito (Romano, 2013).





Figura 7 – Imagens da planta, frutos e cladódios referentes a *Opuntia phaeacantha*, no lado esquerdo e *Opuntia streptacantha* no lado direito (Romano, 2013).



Figura 8 – Imagens da planta, frutos e cladódios referentes a *Opuntia megacantha* (Romano, 2013).

A única espécie dada como naturalizada no território nacional, é a *Opuntia dillenii* Haw (Figura 9). Todas as outras espécies ainda são consideradas invasoras (Marchante, 2005).



Figura 9 – Imagem da planta, cladódios, flores e fruto da *Opuntia dillenii* Haw (USDA, 2009).

#### 1.1.5. Descrição das características do fruto de *Opuntia ficus-indica*

O fruto de *Opuntia ficus-indica* (Figura 10), tem diferentes denominações comuns, consoante o seu local de cultivo: em Espanha denomina-se higo de Índicas, em Portugal Figo da Índia, Piteira ou Figo do Diabo, em Itália Fico d'India, França Figue de Barbarie, EUA e África do Sul Prickly pear ou Cactus pear e no Brasil Palma Forrageira.

É considerado uma baga falsa, carnuda, suculenta e doce. Tal como os cladódios, a sua forma e tamanho varia, podendo ser ovóides, redondos, elípticos com as extremidades côncavas ou convexas.

As suas dimensões variam de 4,8 cm a 10 cm, de comprimento, e 4 cm a 8 cm de largura, estando o seu peso entre 100g e 200g (Alves *et al.*, 2008; Kabas *et al.*, 2006; Sáenz *et al.*, 2006).

Muito embora haja um défice de informações na literatura, relativamente às percentagens dos seus constituintes, existem dois autores que documentaram as oscilações nas proporções dos mesmos.

Segundo Jana (2012), a polpa constitui cerca de 43-47% do fruto, enquanto as sementes 2-10%. O intervalo de percentagens referentes à pele do fruto, apresentados por este autor, parece ser muito elevado (33-55%), uma vez que a pele do fruto é muito fina, não podendo representar mais de um terço do fruto.

Medina, Rodríguez e Romero (2007), descreveram não só o fruto de *Opuntia ficus indica*, mas também de *Opuntia Dillenii*. Nesse estudo, indicaram que a porção edível do fruto de *Opuntia ficus indica*, situava-se nos 45,3% para a variedade verde e nos 48,5% para a variedade laranja. No que se refere à *Opuntia Dillenii* este valor foi de 58,0%. Em relação à percentagem de sementes, a *Opuntia Dillenii* foi a que revelou ter um valor mais elevado, 10,6%, enquanto que na variedade verde de *Opuntia ficus indica* a percentagem foi de 5,9% e na laranja foi de 5,1 %.



Figura 10 – Diversos frutos de espécies distintas, do género *Opuntia*, utilizados neste trabalho.

Nos estádios iniciais de desenvolvimento, a cor da casca geralmente é verde. Consoante as condições de cultura, região e quantidade de betalaínas, esta coloração tende a alterar-se, transformando-se em amarelo, laranja, vermelho, púrpura ou violeta (Ramadan & Morsel, 2003b).

Além de variar no tamanho e forma, também a espessura da sua casca e quantidade de polpa variam. A epiderme é bastante semelhante à dos cládodios, apresentando auréolas abundantes e espinhos de celulose, como as presentes na figura 11 (Sáenz *et al.*, 2006).





Figura 11 – Fruto de *Opuntia ficus-indica* var. Laranja, com a sua epiderme repleta por diversas auréolas e espinhos.

A casca do fruto é composta por proteínas, hidratos de carbono, como amido, e também por uma quantidade avultada de lípidos, nomeadamente, ácidos gordos essenciais (El-Kossori *et al.*, 1998).

Num estudo desenvolvido por Ramadan e Mörsel, (2003b) foram identificados os principais ácidos gordos encontrados na casca dos frutos, nomeadamente mono e poliinsaturados, como por exemplo, o oléico e o linoléico, respectivamente.

Nesse estudo, além da identificação dos ácidos gordos presentes na casca, foi possível determinar a presença de elevadas quantidades de fitoesteróis, sendo o  $\beta$ -sitosterol e o campesterol os principais constituintes do total de esteróis, bem como a existência de  $\beta$ -caroteno, tocoferóis (poderosos antioxidantes) e uma quantidade substancial de vitamina K1 (filoquinona).

A polpa destes frutos, que constitui a parte comestível dos mesmos, é de aspecto gelatinoso e succulento e contém sementes no interior (Figura 12), constituídas maioritariamente por polissacarídeos, nomeadamente a celulose (Ramadan & Morsel, 2003a; Habibi *et al.*, 2008).



Figura 12 – Corte longitudinal em diferentes espécies do género *Opuntia*, utilizadas neste trabalho.

Globalmente, este alimento é considerado uma fonte essencial de compostos bioativos, como as betalaínas, os polifenóis, os carotenóides, a vitamina C e sais minerais (Utkarsha, S *et al.*, 2010; Cayupan, Y *et al.*, 2011) e tem sido utilizado na prevenção de algumas doenças.

É igualmente utilizado no tratamento de gastrite, hiperglicemia, arteriosclerose e diabetes, devido às suas propriedades biológicas, como as actividades antioxidante, anti-cancerígena ou neuroprotetora. Na China é, muitas vezes, utilizado para combater inflamações e dores (Stintzing, 2005; Feugang, 2006).

#### **1.1.6. Quantidades produzidas**

Desde o século XVI, que o México é o país com maior produção e exploração, a nível mundial, das culturas de *Opuntia*. No início da década de 1990, a sua importância aumentou, ocorrendo a incorporação em países como Itália, Chile, Israel ou até os Estados Unidos da América, com o objectivo de competir com o México.

Nos anos de 1995 e 1996, a área de cultivo no México, variava entre os 52 mil e 57 mil hectares, produzindo cerca de 300 a 330 mil toneladas anuais. Após o México, o maior produtor mundial era a Itália, com cerca de 2500 hectares de cultivo, que representavam, 50 mil toneladas anuais de frutos (Inglese *et al.*, 1995; Moreno & Valdéz, 1996).

Um aspecto de extrema importância a considerar, relaciona-se com o modelo de exploração agrícola implementado, com o objectivo de obter um maior rendimento e qualidade na sua exploração, e que recorre à utilização de novas tecnologias e metodologias agrícolas, em detrimento de técnicas mais tradicionais.

Note-se o caso da Itália, cuja área de cultivo, em 1995, era sensivelmente 20 vezes inferior que a do México, mas a produção do fruto era apenas 6 vezes menor, implicando uma produção muito mais intensiva com utilização de métodos de cultivo tecnologicamente mais avançados, proporcionando um rendimento médio muito superior.

Neste período, os maiores exportadores mundiais, eram os Estados Unidos da América, a França e o Japão (Moreno & Valdéz, 1996).

Como comprovativo da crescente demanda na procura do fruto, existem alguns dados posteriores, que revelam um aumento da produção em diversos países (Tabela 1).

**Tabela 1 – Valores estimados das áreas de cultivo e produções anuais, do fruto de *Opuntia*, referentes a 1995 e 2013.**

	1995		2013		
PAÍS	ÁREA (HA)	COLHEITA ANUAL (T)	ÁREA DE CULTIVO (HA)	ÁREA EXPLORADA (HA)	COLHEITA ANUAL (T)
<b>Argentina</b>	500	2500	2000	200000	7500
<b>Chile</b>	1100	8000	1100	395 (Corantes)	-
<b>Itália</b>	2500	50000	3000	-	70000
<b>México</b>	52000	300000	72500	-	-
<b>África do Sul</b>	1000	12400	1500-2000	525000 (forragem)	15000
<b>E.U.A.</b>	120	-	200	-	4000

Fontes: <sup>1</sup> Dados referentes a 1995: – (Inglese *et al.*, 1995; Moreno & Valdéz, 1996)

<sup>2</sup> Dados referentes a 2013 – Sáenz, 2013d; Inglese, 2009; Basile, 2001

Generalizando a área de cultivo, aumentou não só para a produção do fruto, mas também para a exploração de *Opuntia* com o intuito de produzir forragem, para alimentação do gado, exemplo da África do Sul, ou até para a produção do “*Dactylopius coccus*” (Inglese *et al.*, 1995; Moreno & Valdéz, 1996), também conhecido como Cochonilha, com o intuito de produzir ácido carmínico, composto responsável pelo corante carmim (Portillo & Viguera, 2013).

O aumento da área de cultivo, levou a um aumento da produção do fruto, exemplo desse facto, a Itália que passou das 50 mil toneladas anuais, para 70 mil ou até as 12400 toneladas produzidas na África do Sul passaram a 15 mil.

Da mesma forma que no início da década de 1990, a *Opuntia* ganhava interesse e novas potências começavam a surgir, para competir com o México, actualmente existem outros que começam a surgir e a ganhar mais relevância nesta área.

Nações como Egito, Tunísia, Marrocos, Etiópia, Peru, Turquia, Israel ou Brasil, são dos casos mais flagrantes em que está a ocorrer uma aposta forte neste sector agrícola, sendo que no Brasil, a aposta recai mais no crescimento de *Opuntia* para alimentação animal.

É essencial referir que, em muitos destes países, existem diversas zonas de crescimento espontâneo, que são igualmente exploradas, não existindo grande rendimento agrícola, mas que representam uma ajuda importante, para subsistência dos povos locais.

As áreas de exploração referentes ao crescimento espontâneo são bastante superiores, quando comparadas com as de cultivo. Casos como a Argentina, onde existem 200 mil ha a serem explorados e apenas 2 mil ha cultivados ou até a Etiópia, que tem uma área de exploração que

ronda os 355 mil ha, dos quais apenas 30 mil são de cultivo, exemplificam bem as diferenças referidas (Sáenz, 2013d).

#### **1.1.7. Diversos tipos de utilizações para *Opuntia***

Ao longo dos tempos, têm sido estudadas diversas propriedades biológicas dos componentes dos cactos do género *Opuntia*, o que aumentou em larga escala o seu valor e interesse, visto que, existem inúmeras possíveis utilizações a dar aos vários constituintes da planta (Inglese *et al.*, 1995; Moreno & Valdéz, 1996).

O consumo e a comercialização do fruto fresco são, desde o início da exploração de *Opuntia*, a forma mais imediata para a sua utilização. Em tempos antigos, esta fruta era de extrema importância para os habitantes de áreas áridas e com longos períodos de secas, onde a escassez de alimentos era imensa (Ennouri *et al.*, 2006; Barbera *et al.*, 1995).

A sua sazonalidade aliada há sua elevada perecibilidade, aguçou o engenho destas populações, de forma a encontrar novos métodos de conservação de alimentos.

Algumas das primeiras aplicações tradicionais, passavam pela produção de xaropes, compotas, geleias, passas de figo e melcocha, uma espécie de caramelo, obtido através da fervura do sumo da fruta de *O. streptacantha*.

As passas de figos, também designadas de couros de fruta, são produzidas, tradicionalmente, a partir de frutas sem sementes, que são cozidas até ficarem na forma de um xarope. Esta massa é posteriormente deixada a secar ao sol e virada regularmente, com o propósito de assegurar uma uniformização da secagem (Sáenz, 2013c).

A Melcocha é um produto tradicional mexicano semelhante ao xarope, originalmente produzido em escala artesanal, cujo interesse comercial tem aumentado pois é utilizado como enchimento para os pequenos bolos, chamados empanadas (Sáenz, 2013a).

As passas e a Melcocha apresentam diversas vantagens, pois são elaboradas a partir de polpas de fruta natural, não contêm conservantes e podem servir com um doce multivitamínico, podendo substituir outros, que contêm elevados teores em açúcares e aditivos alimentares.

Perante estas características, apresentam-se como produtos atraentes para as crianças, sendo desta forma, uma boa contribuição para uma dieta saudável e alternativa (Sáenz, 2013c).

Como é possível verificar, com o passar do tempo, o leque das suas aplicações alimentares foi aumentando, através da sua inclusão em vários pratos e petiscos tradicionais, tornando-se um ingrediente importante na gastronomia destas regiões.

A sua utilização não se restringiu apenas a estes exemplos, alastrando a novas áreas, como a formulação de bebidas alcoólicas, exemplos o vinho, aguardente e licor, e não alcoólicas, como sumos e nectares, passando pela produção de uma espécie de “queijos”, Queso de Tuna, e até de “mel”, Miel de Tuna (Ramadan & Morsel, 2003a; Inglese *et al.*, 1995).

O Queso de Tuna é um produto artesanal, produzido em pequena escala, conhecido em determinadas regiões do México. O seu nome deriva das suas propriedades organolépticas, nomeadamente, a cor pálida presente no momento da preparação, textura e aparência, que revelam parecenças com as características de um queijo (Sáenz, 2013c).

Apesar do fruto ser muito consumido, o constituinte mais consumido da *Opuntia* são os seus cladódios, apelidados de nopalitos. Os nopalitos são caules mais jovens, extremamente macios e achatados, que brotam no extremo da planta. (Garcia *et al.*, 2004). Vulgarmente são consumidos como um ingrediente de saladas, enquanto o fruto é consumido com fruta fresca (Bensadón *et al.*, 2010).

Após o aproveitamento, do fruto e dos cladódios, restam as flores, também essas aproveitadas, para a preparação de chás, com propriedades diuréticas, muito interessantes (Inglese *et al.*, 1995; Moreno & Valdéz, 1996).

Além de servir para alimentação humana, a *Opuntia* serve como alimentação animal, habitat natural da Cochonilha (Figura 13), utilizada na produção de corante carmim (ácido carmínico) e também é utilizada na agricultura, com diversas propriedades, como fixante do solo, protector de culturas ou até no armazenamento de água no solo. (Nefzaoui & El Mourid, 2009; Inglese *et al.*, 1995).

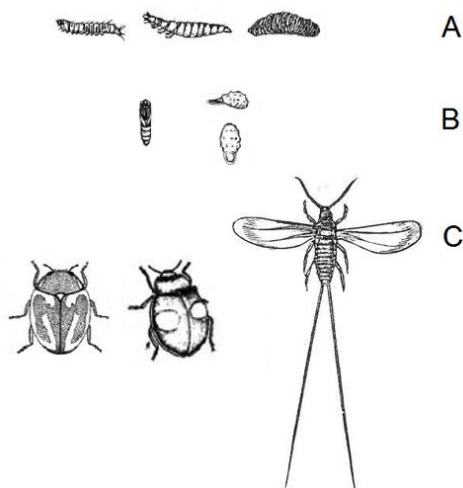


Figura 13 – Estádios de desenvolvimento da Cochonilha:  
a) Larva; b) Pupa; c) Adulto (Portillo & Viguera, 2013)

A quantidade de plantações dedicadas exclusivamente ao crescimento e reprodução deste insecto tem vindo a aumentar, impulsionada pela tendência de consumir produtos livres de aditivos químicos, exponenciando a produção de pigmentos naturais, substituindo os de origem sintética.

A sua produção mundial evoluiu bastante desde 2001, uma vez que a sua produção situava-se nas 1000 toneladas anuais, progredindo para valores superiores a 3500 toneladas, em 2013.

Além de funcionar como corante natural, têm sido estudadas novas aplicações para este produto, nomeadamente a sua utilização como agente contra infecções de vários tipos, devido à sua capacidade antimicrobiana. (Portillo & Viguera, 2013)

Pelos exemplos referidos anteriormente, percebe-se o potencial para a produção, em pequena escala, de alimentos e produtos baseados em *Opuntia*, não só em países desenvolvidos, mas também nos sub-desenvolvidos, com incidência em África ou Médio Oriente, ajudando a mitigar a escassez de alimentos que impera nessas zonas (Sáenz & Sepúlveda, 2013).

Além dos usos acima listados, os figos estão a ser encarados como um possível agente purificador de água suja, dada a sua capacidade de absorção mas simultaneamente funcionando como agentes de filtração ou metabolização de contaminantes.

Por outro lado a cultura de *Opuntia* funciona como um mecanismo para evitar a erosão do solo, sobretudo nas zonas áridas onde constitui uma das poucas espécies vegetais com capacidade de subsistir.

Por outro lado encontram-se diversas aplicações dos frutos e cladódios de *Opuntia* no sector alimentar, quer de forma directa quer através do aproveitamento de alguns dos seus componentes funcionais.

Goycoolea e Cárdenas (2003) realçaram que o teor de pectina, em *Opuntia robusta*, encontra-se no intervalo descrito para cascas de citrinos (20% a 30%).

A ingestão de pectina proveniente da *Opuntia*, tem diversos aspectos positivos, uma vez que esta inclui actividade anti-inflamatória para o tratamento da enterite (inflamação da mucosa dos intestinos) e o alívio dos sintomas, provocados por hipertrofia benigna da próstata (Goycoolea & Cárdenas, 2003).

Na Tabela 2, encontram-se algumas das possíveis aplicações dadas aos diversos produtos provenientes da *Opuntia*.

**Tabela 2 – Diversas aplicações provenientes de Opuntia.**

ÁREA DE APLICAÇÃO	USO ESPECÍFICO
<b>Agricultura</b>	Fixação do solo
	Armazenamento de água no solo
	Proteção do vento e condições climáticas adversas
<b>Alimentação do gado</b>	Forragem
	Desperdícios dos frutos
<b>Corantes</b>	Betalaínas nos frutos – Corante alimentar natural
	Ácido carmínico – tintas carmins da cochinilla
<b>Produção de energia</b>	Biomassa
	Biocombustível – Álcool
<b>Usos medicinais</b>	Cladódios para tratamento da diabetes e colesterol
	Flores com fins diuréticos
<b>Alimentar</b>	Frutos frescos
	Sumos e néctares de fruta
	Compotas e geleias de fruta e cladódios
	Vinhos, licores, aguardentes e vinagre.
	Pectina
	Purés e concentrados –aromatizante em bebidas, iogurtes, pastelaria e gelados.
	Nopalitos frescos, salgados ou em pickles
	Sumos de cladódios. Bases/ingredientes de outros sumos
	Farinhas
	Revestimento para aumentar a vida útil
	Óleo essencial a partir das sementes.

Fontes: <sup>1</sup> Inglese et al., 1995; <sup>2</sup> Viguera & Portillo, 2001, <sup>3</sup> Sáenz, 2013b, <sup>4</sup> Duru & Turker, 2005, <sup>5</sup> Goycoolea & Cárdenas, 2003, <sup>6</sup> Del-Valle et al., 2005; <sup>7</sup> Nefzaoui & El Mourid, 2009.

A diversificação dos seus usos, nos mais diversos campos industriais, revela todo o seu potencial, uma vez que a sua utilização não se limita aos frutos, flores ou cladódios; a grande maioria dos seus componentes podem ser aproveitados e utilizados para diferentes fins.

Na Tabela 3, apresentam-se algumas das aplicações dos diferentes componentes dos cactos do género *Opuntia* no sector alimentar.

**Tabela 3 – Diversas aplicações para os diferentes constituintes de *Opuntia*.**

FRUTOS	CLADÓDIOS	SUB-PRODUTOS
Fruta enlatada	<i>Nopalitos</i>	Óleo de semente
Fruta e polpa congelada	Álcool	Mucilagem da fruta e cladódios
Doces	Farinha	Pigmentos da pele e fruto
Compotas, geleias/géis e concentrados	Cladódios em conserva e salmoura	Rações animais a partir de sementes e peles de frutos
Fruta desidratada	Molhos	Fibras dietéticas dos cladódios
Sumos e néctares	Sumos	–
Vinhos, licores e vinagre	Compotas e geleias	–

Fontes: Sáenz, 2000; Corrales & Flores, 2003; Del-Valle *et al.*, 2005

Devido à elevada perecibilidade dos frutos, os produtores de *Opuntia*, têm como grande preocupação a sua deterioração, seja ela por factores enzimáticos, químicos ou biológicos, responsáveis pela alteração da textura do alimento, das suas características sensoriais, como cor, aroma e sabor, e das suas propriedades nutricionais.

De todas estas, as que mais preocupações geram são as biológicas, pois encontram-se relacionadas com a segurança dos alimentos, para consumo humano.

Actualmente, os avanços tecnológicos possibilitam minimizar este tipo de alterações que colocam em causa a qualidade e segurança dos alimentos.

Desta forma, é exequível alcançar maiores períodos de vida útil, diminuindo a quantidade de alimentos deteriorados e impróprios para consumo, bem como explorar outras aplicações para os alimentos, aproveitando todos os seus componentes e suas propriedades biológicas, como por exemplo o óleo de sementes dos frutos da *Opuntia* (Sáenz, 2013c).



#### **1.1.8. Componentes bioactivos presentes em *Opuntia***

Os cactos são recursos naturais muito significativos em regiões áridas e semi-áridas. Eles podem ser considerados plantas polivalentes, pois além de serem utilizados para alimentação humana e animal, têm diversas utilizações, enunciadas no capítulo anterior.

Estas plantas podem ser exploradas de uma maneira integral, desde os seus frutos, caules, sementes, cladódios, flores e até as raízes. As diferentes partes da planta têm sido tradicionalmente usada para fins medicinais em diversos países, especialmente na América Latina.

Os usos tradicionais do seus produtos, para fins curativos e terapêuticos, são diversos e têm sido amplamente estudados, uma vez que, são uma fonte rica de compostos bioactivos (Saenz, 2000; Ennouri *et al.*, 2006; Barbera *et al.*, 1995).

Na página seguinte observa-se na tabela 4, os compostos bioactivos presentes em cada parte da planta, desde as raízes até aos cladódios, passando pelas flores e frutos (sementes e pele).

**Tabela 4 – Compostos bioativos nas diferentes partes da *Opuntia*.**

CONSTITUINTE DA PLANTA	COMPONENTES BIOATIVOS	PRINCIPAIS COMPOSTOS IDENTIFICADOS	REFERÊNCIAS
<b>Fruto</b>	Betalainas	Betaxantinas (Indicaxantina)	Castellanos-Santiago & Yahia, 2008
		Betacianinas (Betanina, Isobetanina)	
	Vitamina C		Galati <i>et al.</i> , 2003
	Fibra		Medina <i>et al.</i> , 2007
	Minerais	Potássio, cálcio, magnésio	Medina <i>et al.</i> , 2007
	Polifenóis	Ácido Ferúlico	Galati <i>et al.</i> , 2003
	Tocoferóis	δ-Tocoferol	Ramadan & Morsel, 2003a
	Fitosteróis	β-sitosterol	Ramadan & Morsel, 2003a
<b>Pele do fruto</b>	Polissacáridos	Derivados ricos em arabinano	Habibi <i>et al.</i> , 2004a,
			Habibi <i>et al.</i> , 2004b,
			Habibi <i>et al.</i> , 2005a
	Lípidos	Lípidos Insaturados	Ramadan & Morsel, 2003b
<b>Cladódios</b>	Pectinas (Mucilagem)	Polissacáridos	Sepulveda <i>et al.</i> , 2007, Madjdoub <i>et al.</i> , 2001
	Fibras dietéticas	Fibra dietética insolúvel	Ayadi <i>et al.</i> , 2009
	Clorofilas	Clorofila a	Ayadi <i>et al.</i> , 2009
	Minerais	Potássio, cálcio, magnésio	Ayadi <i>et al.</i> , 2009
	Flavonóides	Campferol	Valente <i>et al.</i> , 2010
	Compostos fenólicos	Ácido gálico, cumárico, nicotiflorina e rutina	Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010
<b>Sementes</b>	Lípidos	Ácidos gordos poliinsaturados (Ácido linoleico)	Ennouri <i>et al.</i> , 2005 Labuschagne & Hugo, 2010
		Ácidos gordos monoinsaturados (Ácido oleico)	
	Tocoferóis	γ-Tocoferol	Ramadan & Morsel, 2003a
	Fitosteróis	β-sitosterol	Ramadan & Morsel, 2003a
	Polissacáridos	Derivados ricos em arabinano	Habibi <i>et al.</i> , 2004b
<b>Flores</b>	Flavonóides	Quercetina e Campferol	Ahmed <i>et al.</i> , 2005 De Leo <i>et al.</i> , 2010
	Betalainas	Betanina e Filocactina	Piatelli & Imperato, 1969
<b>Raízes</b>	Flavonóides		Alimi <i>et al.</i> , 2010

## 1.2 Óleos Essenciais de sementes

“ Eis que lhes dou todas as plantas que nascem em toda a terra e produzem sementes, e todas as árvores que dão frutos com sementes. Elas servirão de alimento para vocês.” In Bíblia, Genesis 1:29

Os óleos essenciais têm sido amplamente aproveitados, desde a Idade Média, devido às suas propriedades medicinais, como o seu poder antimicrobiano, antiséptico ou antifúngico, bem como pelas suas propriedades cosméticas. Na actualidade, são muito utilizados pelas indústrias farmacêutica, sanitária, cosmética, agrícola e alimentar.

São líquidos voláteis, límpidos e, na sua grande maioria, incolores, caracterizados por um odor forte, sendo metabolitos secundários de plantas aromáticas. São solúveis em lípidos e solventes orgânicos, com uma densidade, geralmente, menor que a da água. A destilação, desenvolvida pelos árabes na Idade Média, foi a primeira forma de extrair este óleo das plantas (Bakkali *et al.*, 2008).

Na natureza, desempenham um papel importante na protecção de plantas, funcionando como agentes antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e também actuando contra herbívoros, reduzindo seu apetite para tais plantas. Têm, igualmente, a função de atrair alguns insetos para favorecer a dispersão de pólen e sementes (Jorge *et al.*, 2010).

Os óleos essenciais são mesclas naturais muito complexas, que conseguem abranger entre 20 a 60 constituintes, em concentrações muito diferenciadas. De uma forma geral, são constituídos por dois ou três compostos principais, que se encontram em concentrações relativamente elevadas, entre 20 a 70%, em comparação com outros que se encontram em quantidades vestigiais.

Geralmente, as propriedades biológicas dos óleos, são determinadas por estes compostos presentes em maiores quantidades. Os seus constituintes estão englobados em dois grupos distintos, mas com uma característica em comum, ambos apresentam uma baixa polaridade.

O grupo principal é constituído por terpenos e terpenóides, o segundo, é constituído por compostos aromáticos e alifáticos (Bakkali *et al.*, 2008).

A possibilidade da sua síntese ser efectuada principalmente pelas sementes, é de extrema importância, visto que milhões de quilos de sementes de frutas são descartados anualmente, resultantes do seu processamento, trazendo consigo problemas de eliminação.

Portanto, uma das possíveis utilizações apropriadas para estes resíduos é a extração do seu óleo de semente, que em alguns casos tem um alto valor biológico e nutricional (Ramadan & Morsel, 2003a).

O óleo de semente, tem na sua constituição uma característica que o diferencia dos óleos vegetais das oleaginosas, uma vez que apresenta elevadas quantidades de ácidos oleico e linoleico (Chougui *et al.*, 2013; Piombo *et al.*, 2006; Fernandes *et al.*, 2013; Demirbas, 2010).

### 1.2.1 Valorização de resíduos agro-alimentares

Segundo a Comissão Europeia, resíduo é toda e qualquer substância que o detentor descarta, tem intenções de descartar ou é obrigado a descartar (European Commission, 1975).

Ao longo de todo o processamento industrial, existem vários processos pelos quais o alimento tem de passar. Na figura 14, está representado um esquema do processamento geral de uma fábrica de produtos alimentares.

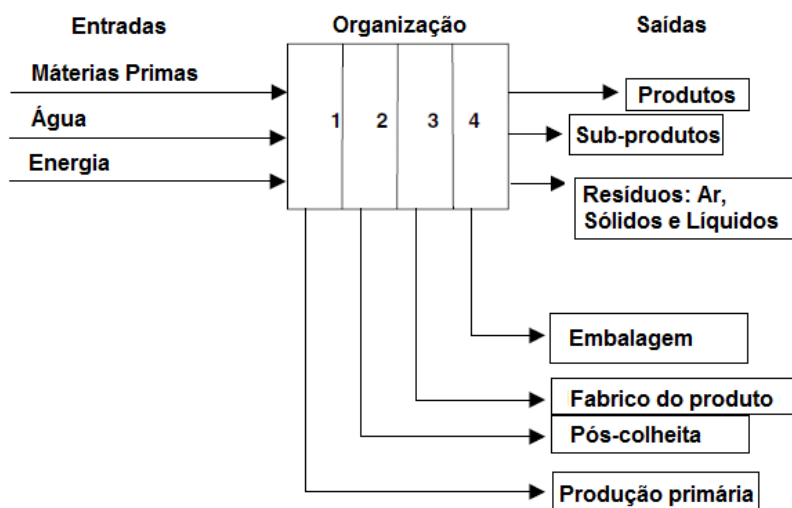


Figura 14 – Esquema geral, de uma fábrica alimentar Gekas & Nikolopoulou, 2007).

De acordo com o banco de dados do Eurostat da Comissão Europeia (CE), os resíduos gerados em 2002 a partir do fabrico de produtos alimentícios, bebidas e produtos de tabaco foram, em média, cerca de 154 kg por habitante por ano, variando entre os 22 kg e 600 kg, conforme os países.

Esta variação não é justificada pelos diferentes métodos de produção ou pelos produtos consumidos, geradores de maiores quantidades de resíduos, mas permite concluir que existe a necessidade de elaborar diretrizes, de forma a definir e avaliar os diferentes tipos de resíduos produzidos (Russ & Schnappinger, 2007).

A recolha de dados precisos é indispensável não só para saber que quantidades de um determinado tipo de resíduos foi produzido, mas nomeadamente para projetar como este desperdício pode ser empregado ou valorizado (Eurostat, 2005).

A indústria alimentar é caracterizada por uma produção elevada de resíduos específicos, tais como cascas, peles e sementes oleaginosas. Em muitos casos, esta biomassa pode constituir um problema de eliminação, agravado por restrições legais, mas por outro lado, é uma fonte interessante de compostos naturais de alto valor acrescentado (Eller *et al.*, 2010).

Devido à sua reduzida estabilidade biológica, natureza perecível, alto teor de água e elevada actividade enzimática, estes resíduos necessitam urgentemente de tratamento e valorização, para minimizar os seus efeitos nocivos para o ambiente.

Os diferentes tipos de resíduos gerados, pelos diversos ramos da indústria, podem ser quantificados com base em cada nível de produção (Russ & Schnappinger, 2007; Fernandes *et al.*, 2013).

As sementes de fruta são, muitas vezes, referidas como um desperdício bastante significativo das actividades agrícola e industrial. Assim, encontrar soluções viáveis para o tratamento desse resíduo, incluindo tentativas para o desenvolvimento de novos produtos de valor acrescentado, constitui uma excelente oportunidade de maximizar o lucro total do alimento (Fernandes *et al.*, 2013; Eller *et al.*, 2010).

Um dos prováveis usos para estes resíduos, é a extração de óleos para a produção de biodiesel, visando desta forma, a substituição dos combustíveis fósseis (Wang, 2013). O biodiesel, que consiste em ésteres monoalquílicos de ácidos gordos de cadeia longa, é um combustível adequado para utilização em motores a diesel (Wang *et al.*, 2012; Karmakar *et al.*, 2010).

O alto custo é a maior barreira para a sua comercialização generalizada, sendo que 70% a 80% do custo total de produção de biodiesel, está relacionado com o custo das matérias-primas (Demirbas, 2009; Wang *et al.*, 2011).

De acordo com a Directiva 2003/30/CE, a União Europeia propôs uma redução fiscal de 90% para o uso de óleos de biodiesel. Este é o principal incentivo para a substituição dos combustíveis diesel convencionais por fontes de energia renováveis, como óleos vegetais.

A transformação destes resíduos, na produção de aditivos alimentares ou suplementos com alto valor nutritivo, tem sido outra das opções mais exploradas para a valorização desta biomassa. Este tipo de subprodutos tem gerado cada vez mais interesse, pois têm alto valor acrescentado e sua recuperação pode ser economicamente atraente (Oreopoulou & Tzia, 2007).

Têm sido produzidos diversos óleos alimentares, a partir de sementes de frutos e vegetais, que até à data, eram consideradas resíduos, sendo descartadas ou utilizadas como ração animal (Shao *et al.*, 2012).

Por outro lado as sementes são ricas em fibras dietéticas, constituídas por polissacarídeos e lenhina, que possuem quantidades apreciáveis de compostos antioxidantes ou outras substâncias benéficas para a saúde.

Além dos efeitos positivos para a saúde, as fibras dietéticas exibem algumas propriedades funcionais, tais como a capacidade de retenção de água e aumento da viscosidade ou de formação de gel, características essenciais na formulação de certos produtos alimentares, como compotas e geleias por exemplo.

Actualmente, é possível encontrar uma gama bastante alargada de alimentos formulados com alto teor de fibras. Além destas fibras, é comum encontrar outros micronutrientes orgânicos, conforme os carotenóides e polifenóis, que são benéficos para a saúde (Oreopoulou & Tzia, 2007).

A maior difusão de informação sobre os possíveis malefícios dos aditivos alimentares sintéticos, nomeadamente dos seus riscos toxicológicos, leva a uma maior procura de aditivos de origem natural, como compostos antioxidantes ou corantes, que conseguem atestar as exigências dos consumidores, surgindo como uma solução para o problema dos aditivos sintéticos.

A consciencialização da estreita relação entre a nutrição e saúde induz uma necessidade crescente, de incluir ingredientes que promovam a saúde e o bem-estar. Desta forma, os alimentos funcionais ou enriquecidos com nutracêuticos são uma categoria de alimentos que está a ganhar importância extrema.

Assim, é necessário o desenvolvimento de novos produtos com perfis nutricionais melhorados, com ingredientes naturais, cuja proveniência deverá advir cada vez mais do aproveitamento de subprodutos provenientes do processamento de outros alimentos, que têm propriedades alimentares e funcionais específicas, podendo ser utilizados de forma eficaz para desenvolver esta nova categoria de alimentos (Russ & Schnappinger, 2007, Oreopoulou & Tzia, 2007).

### **1.2.2 Composição e propriedades dos óleos de semente**

A produção de diversos óleos alimentares, a partir de sementes de frutos e vegetais, tem sido cada vez mais valorizada por muitos dos produtores alimentares, uma vez que a associação das actividades de processamento dos alimentos, com a produção de óleo essencial a partir deste resíduo (as sementes), é uma das formas de maximizar o lucro total das suas culturas (Sáenz & Sepúlveda, 2013).

Os diferentes óleos existentes apresentam algumas diferenças nas suas propriedades, que são explicadas por diversos factores, relacionados com a origem da semente e com o seu estado de maturação, na medida em que a sua composição química vai sofrendo alterações nos vários estádios de crescimento, com as condições climáticas e com o tipo de solo de cultivo (Coskuner & Tekin, 2003; Bensadón *et al.*, 2010).

A maior parte dos óleos de origem vegetal é uma mistura de triglicerídeos, que preservam a energia para o futuro da planta.

O teor de óleo nas sementes é alto situando-se, geralmente entre 10 e 50 %. Outros componentes do óleo, metabólitos secundários como esteróis, tocoferóis e carotenóides, estão presentes em quantidades substancialmente mais baixas.

A maioria destas substâncias é biologicamente activa, atribuindo valor acrescentado aos óleos, potenciando as suas aplicações em mercados como produtos farmacêuticos ou aditivos alimentares.

O teor de ácidos gordos livres no óleo é variável e aumenta com a actividade de enzimas de plantas e com o tempo decorrido entre o esmagamento das sementes e a sua extracção.

Para fins comerciais, a concentração dos componentes dos óleos de origem vegetal nos extractos, deve ser aumentado, no caso de substâncias bioactivas, ou reduzida, no caso de ácidos gordos livres (Sovová *et al.*, 2010).

O óleo de semente da *Opuntia* tem características semelhantes a outros óleos comestíveis, como o de uva ou milho e, caso os preços se revelem competitivos, pode competir com estes, tendo como base o seu uso culinário, o sabor neutro e a sua composição química (Sáenz & Sepúlveda, 2013).

#### **1.2.2.1 Óleo de semente de uva**

O vinho é um produto apreciado à escala mundial e a sua produção ascende às 68 milhões de toneladas. Em Portugal, representa uma actividade sócio-económica de grande destaque, sendo que a produção de uvas, em 2010, foi superior a 945 mil toneladas, demonstrando ser uma das culturas mais relevantes em termos de emprego e de riqueza.

As sementes representam aproximadamente 5% do peso do fruto e cerca de 3 milhões de toneladas de sementes de uva são descartados anualmente no mundo, sendo que esse valor em Portugal é aproximadamente 47 mil toneladas (Fernandes *et al.*, 2013).

A semente de uva é um subproduto da produção vinícola, sendo genericamente utilizado para a alimentação animal ou destruída por incineração. É considerada um desperdício significativo porque corresponde a 38-52% do peso, em base seca, do bagaço .

Um destino alternativo para este resíduo pode ser a extração de óleo de semente, reconhecida como um produto de alto valor acrescentado, que oferece muitas vantagens para o consumo humano. Dependendo da variedade da uva, o teor de óleo de sementes de uva na faixa usual é de 10-16 % do peso seco (Dalmolin, *et al.*, 2010).

O óleo de semente de uva é rico em ácidos gordos insaturados, tais como ácido linoleico e ácido oleico e contém diversos mono e diglicéridos.

Além destes componentes, apresenta grandes quantidades de Vitamina E, e grande variedade de outros antioxidantes naturais, tais como a vitamina C, polifenóis e flavonóides, que têm ação positiva sobre os possíveis danos provocados pelos radicais livres (Sabir *et al.*, 2012).

Recentes investigações têm incidido sobre a influência do óleo de semente de uva em doenças crônicas, como o cancro por exemplo, mas também sobre o seu poder antioxidante e antibacteriano. Desta forma, as indústrias farmacêutica e cosmética têm mostrado grande interesse neste óleo (Fernandes *et al.*, 2013; Sabir *et al.*, 2012).

#### **1.2.2.2 Óleos de semente de tomate**

Em 2002, cerca de 12 milhões de toneladas de tomates foram consumidos sob a forma de produtos processados, como por exemplo polpa de tomate, sumo ou ketchup. Em 2008, esse valor ascendeu a 43 milhões de toneladas (Eller *et al.*, 2010; Shao *et al.*, 2012).

Todo o processamento industrial produz grandes quantidades de resíduos, cerca de 3 a 7,5 %, dos quais 70% correspondem a bagaço de tomate, que é maioritariamente constituído por pele e semente (Giannelos *et al.*, 2005; Shao *et al.*, 2012).

Para maximizar o valor económico tomate e proteger o meio ambiente, os transformadores de tomate necessitam de encontrar usos alternativos para estes resíduos.

Até 2008, cerca de 60% das sementes eram descartadas para alimentação de gado, sendo que a solução alternativa era o aterro sanitário, trazendo enormes problemas ambientais (Eller *et al.*, 2010, Giannelos *et al.*, 2005).

A busca de novas utilizações para a semente, trouxe consigo o aproveitamento da mesma para a produção de um óleo alimentar.

As sementes de tomate contêm cerca de 20% a 36,9% de óleo, sendo que a sua variação de qualidade, depende da composição da matéria-prima e das condições de processamento aplicadas (Eller *et al.*, 2010, Shao *et al.*, 2012).

Devido ao alto teor de ácidos gordos insaturados, especialmente de ácido linoleico, o óleo de semente de tomate é uma boa fonte de óleo alimentar, mas também como ingrediente na indústria cosmética, entre outras utilizações (Oreopoulou & Tzia, 2007).

Se todas as sementes a partir de polpa de tomate forem utilizadas para a produção de óleo, existe a possibilidade de produzir mais do que 140 milhares de toneladas de óleo de alta qualidade em cada ano em todo o mundo (Shao *et al.*, 2012).



### **1.2.2.3 Óleo de semente de abóbora**

As abóboras pertencem à família Cucurbitaceae e são cultivadas amplamente em todo o mundo, com predominância em regiões temperadas e subtropicais.

Este fruto é utilizado na indústria alimentar na produção de polpas, sumos, concentrados, doces e bebidas alcoólicas. Além disso, os subprodutos de produção de abóbora, em especial sementes, são uma ótima fonte de compostos bioativos, utilizados na indústria farmacêutica e na produção de óleos vegetais (Patel, 2013).

O óleo é produzido principalmente pelo método tradicional, no qual as sementes limpas são secas, moídas, amassadas, torradas e pressionadas a temperaturas que variam entre os 100-130°C. O passo final de processamento, passa por uma clarificação do óleo por decantação (Andjelkovic et al, 2010; Patel, 2013).

Este óleo tem um aroma muito típico a noz e uma coloração que varia de verde-escuro ao ocre-vermelho. Devido à sua cor e aroma forte, o óleo de semente de abóbora não é usado para cozinhar, mas como um condimento frio (Stevenson *et al.*, 2007).

As suas propriedades têm sido relacionadas com a inibição da progressão da artrite e hipertensão, bem como a redução dos níveis de cancro mamário, gástrico, do colon e do pulmão (Andjelkovic et al, 2010; Stevenson *et al.*, 2007).

### **1.2.2.4 Outros óleos alimentares, provenientes de sementes**

Além dos frutos anteriormente referidos, existem cada vez mais óleos alimentares a serem produzidos a partir de sementes de frutos.

No Brasil, as sementes do maracujá têm sido cada vez mais exploradas. Este fruto é comercializado fresco, podendo ser utilizado no comércio da indústria de refrigerantes, doces, gelataria, entre outras.

No entanto, a utilização do fruto para sumo concentrado, é a que apresenta maior importância económica (Malacrida & Jorge, 2012).

O Brasil apresenta uma produção aproximada de 330 mil toneladas por ano. Estima-se que o resíduo da produção de sumo de maracujá atinja 40% da quantidade de frutos processados. Cerca de 90% dos resíduos são cascas e sementes, sendo que as últimas representam cerca de 6 a 12% do peso total do fruto (Malacrida & Jorge, 2012; Ferrari *et al.*, 2004).

A extração do óleo das sementes de maracujá pode agregar valor a este subproduto, pois é composto por diversos ácidos gordos insaturados com predominância do ácido linoleico (Ferrari *et al.*, 2004).

Outro óleo amplamente utilizado na indústria cosmética e alimentar, é óleo extraído do caroço de pêssego. O pêssego é considerado a terceira fruta mais importante de árvores de folha caduca, sendo apenas superado por maçãs e pêras.

Com efeito, é uma das frutas com maior produção mundial, sendo que uma parte significativa da produção de pêssegos é processada, resultando numa quantidade substancial de resíduos, formados essencialmente por pele e caroço. Além deste facto, o caroço contém cerca de 50% de óleo na sua constituição, rentabilizando ainda mais o seu aproveitamento.

Visto que o seu carácter nutricional é muito interessante, devido à quantidade de ácidos gordos insaturados e componentes antioxidantes na sua constituição, a sua aplicabilidade em diversas áreas tem sido muito estudada, mas é na cosmética que este ganhou mais relevância.

É um ingrediente importante na elaboração de sabões, champôs, loções e cremes, possuindo como característica principal fácil absorção, sem deixar uma sensação gordurosa na pele (Wu *et al.*, 2011).

A cereja, a nectarina e a ameixa são outros exemplos de frutos que têm sido amplamente explorados, visando a produção de óleos de grande interesse nutricional, mas também com aplicações em diversas áreas (Kamel & Kakuda, 1992).

### **1.2.3 Métodos de extracção e fraccionamento**

Os óleos de sementes de produção industrial, são geralmente obtidos por meio de processos mecânicos e recorrendo a extracções com solventes orgânicos, principalmente hexano.

O óleo obtido por meio de processos de separação mecânica é de alta qualidade, mas, o rendimento do processo é menor, quando comparado com a extracção de hexano, que atinge quase recuperação completa do óleo.

A contrapartida da utilização deste solvente, está relacionada com o perigo de manuseamento, pois este é muito prejudicial para a saúde humana e o meio ambiente, podendo levar a restringir o seu uso em alimentos, cosméticos e fármacos (Liu *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2007).

Não obstante de ser considerado um solvente por excelência neste género de extracções, subsistem outras alternativas manifestando igual eficácia, como por exemplo, a mistura clorofórmio/metanol, que permitiu a caracterização do perfil de ácidos gordos da *Opuntia ficus-indica*, num estudo realizado por Ramadan e Morsel (2003 b).

De uma forma geral, a obtenção de sementes isoladas, envolve alguns processos que permitam a sua separação das pequenas quantidades de polpa, que permanecem agarradas às mesmas.

Estas porções de polpa, podem ser removidas por aquecimento durante dois minutos, numa solução de NaOH a 2%, com a temperatura entre os 90-95°C. As sementes são então lavadas com água, até que todos os vestígios de NaOH tenham sido removidos (Sáenz & Sepúlveda, 2013).

Após este passo, são secas à temperatura ambiente ou num secador artificial, com temperaturas num intervalo de 55-60°C, procedendo-se então à sua moagem, num moinho de martelos ou similar, com o intuito de reduzir o seu tamanho e facilitar a extracção do óleo.

Posteriormente à moagem, procede-se à sua imersão no solvente durante 16-18 horas, com agitação periódica para estimular o processo de extracção de óleo. Este processo pode ser efectuado com recurso à temperatura, ou a temperatura ambiente. Para separar o solvente do óleo, a mistura é evaporada e, em seguida, destilada no vácuo (Sáenz & Sepúlveda, 2013).

A Extração com fluidos supercríticos (SFE), utilizando dióxido de carbono supercrítico, é um método alternativo para a extração de óleos, a partir de produtos naturais, que tem ganho cada vez mais importância.

É uma operação sugerida para matrizes como folhas de diversas plantas, como alecrim e sálvia, mas também aplicável a outras matrizes de origem vegetal (Wang *et al.*, 2007).

O interesse relativo nesta técnica tem aumentado nos últimos anos, devido às características vantajosas dos seus solventes, nomeadamente o dióxido de carbono.

Este composto é um gás inerte, não tóxico, tem um impacto ambiental reduzido e permite executar o método a temperaturas ambiente e a pressões relativamente baixas (Liu *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2007).

Outros dos factores atraentes deste solvente, prendem-se com a sua obtenção com um elevado nível de pureza a baixo custo, a sua imediata evaporação quando exposto a condições atmosféricas e a obtenção de um óleo com ausência de compostos de degradação química, térmica e de resíduo de solvente (Liu *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2007).

O óleo produzido através deste método tem bastante qualidade, uma vez que permite a obtenção de um extracto com um grau de pureza elevado, bem como a extracção de compostos de alto valor biológico.

Um bom exemplo de substâncias que agregam valor ao óleo essencial, são os compostos antioxidantes, que existem em pequenas quantidades nas matrizes alimentares, e que são pouco extraídos com hexano, encontram-se em quantidades muito menores ou quase inexistentes, quando comparadas com as obtidas com a extração supercrítica (Wang *et al.*, 2007).

A comparação dos óleos obtidos através dos dois métodos, permite avaliar que, muito embora os rendimentos mais elevados sejam na extração com hexano, a extração supercrítica produz um óleo de maior qualidade (Liu *et al.*, 2009).

Aliando as quantidade de óleo presentes na semente, com os rendimentos apresentados por qualquer um destes métodos apresentados anteriormente, afere-se que a produção deste género de óleo só é viável em associação com outras atividades de processamento, como o fabrico de concentrados, sumos ou produtos semelhantes que produzem grandes quantidades de semente (Sáenz & Sepúlveda, 2013).

A extração de óleo é uma forma de agregar valor ao que é essencialmente um produto residual, desta forma, a produção de óleo por si só, dificilmente poderá ser economicamente viável para o produtor (Sáenz & Sepúlveda, 2013).

#### **1.2.4 Determinação do perfil de ácidos gordos dos óleos de semente**

O perfil de ácidos gordos de um óleo vegetal é determinante para as suas propriedades físico-químicas como o ponto de fusão, mas também para as sua bioactividade sendo os óleos ricos em ácidos gordos poliinsaturados, apontados como possíveis alimentos funcionais com actividade benéfica para o sistema cardiovascular e para o sistema nervoso.

Os óleos de semente têm-se destacado neste contexto pois têm sido referenciados como fontes abundantes de ácido linoleico, ácido linolénico e outros ácidos gordos insaturados (Chougui *et al.*, 2013; Piombo *et al.*, 2006; Fernandes *et al.*, 2013; Demirbas, 2010).

Com o propósito de enquadrar o perfil de ácidos gordos provenientes do óleo de semente do figo-da-Índia, na Tabela 5, estão apresentados outros perfis de ácidos gordos pertencentes aos frutos, cuja exploração comercial tem sido mais intensiva.

**Tabela 5 – Composição dos ácidos gordos presentes em óleos de semente de diversos frutos.**

ÁCIDO GORDO	ABÓBORA <sup>a</sup> <i>C. pepo</i> <i>C. moschata</i> <i>C. maxima</i>	MARACUJÁ <sup>b</sup> <i>Passiflora</i> <i>edulis</i>	UVA <sup>c</sup> – 20 variedades Syrah; Aragonês; Touriga Francesa e Nacional	OPUNTIA FICUS- INDICA <sup>d</sup>	TOMATE <sup>e</sup> <i>Lycopersicon</i> <i>esculentum</i>
Ácido decanóico (C10:0)	-	-	-	-	0,26 - 0,33
Ácido dodecanóico (C12:0)	-	-	0,03 - 0,04	-	0,25 - 0,52
Ácido tridecanóico (C13:0)	-	-	-	-	0,22 - 0,35
Ácido tetradecanóico (C14:0)	0,08 - 1,2	0,01 - 0,08	0,04 - 0,16	0,11 - 0,27	0,10 - 1,10
Ácido tetradecenóico (C14:1)	-	-	-	-	0,20 - 0,55
Ácido hexadecanóico (C16:0)	9,13 - 25,4	8,8 - 12,04	6,17 - 10,24	9,32 - 15,91	10,9 - 18,10
Ácido hexadecenóico (C16:1)	0,08 - 0,9	0,11 - 0,2	0,13 - 0,24	0,75 - 1,80	0,08 - 3,81
Ácido heptadecanóico (C17:0)	0,1 - 0,28	0,1	0,07 - 0,14	0,05 - 0,07	0,1
Ácido heptadecenóico (C17:1)	-	-	0,01 - 0,04	-	0,04
Ácido octadecanóico (C18:00)	0,27 - 7,33	2,2 - 3,1	2,95 - 5,91	2,59 - 5,4	4,0 - 11,98
Ácido octadecenóico (C18:1)	13,5 - 52,0	13,6 - 18,06	13,86 - 24,88	16,8 - 28,6	19,90 - 24,60
Ácido octadecadienóico (C18:2)	19,8 - 59,0	67,8 - 74,2	60,94 - 73,10	49,3 - 70,3	39,69 - 56,20
Ácido octadecatrienóico (C18:3)	0,12 - 0,9	0,3 - 0,69	0,14 - 0,64	0,20 - 2,58	0,40 - 5,73
Ácido eicosanóico (C20:0)	0,03 - 1,0	0,10 - 0,20	0,15 - 0,27	0,17 - 0,66	0,41 - 1,53
Ácido eicosenóico (C20:1)	0,07 - 0,26	0,1	0,11 - 0,22	0,16 - 0,8	0,12 - 0,6
Ácido eicosadienóico (C20:2)	-	-	-	0,20-0,30	-
Ácido docosanóico (C22:0)	0,09 - 0,39	Vestígios	0,04 - 0,09	0,15 - 0,53	0,09
Ácido docosenóico (C22:1)	0,06 - 0,8	-	-	-	-
Ácido tetracosanóico (C24:0)	0,17 - 0,57	-	0,04 - 0,05	0,19	0,08 - 0,17
Σ AG saturados	17,47 - 20,11	11,4 - 14,6	10,37 - 15,38	12,43 - 22,8	18,19 - 31,38
Σ AG insaturados	68,6 - 80,9	85,4 - 88,6	84,93 - 89,63	76,18 - 88,52	65,63 - 81,72
Σ AG monoinsaturados	14,9 - 32,40	14,04 - 14,6	13,26 - 24,88	18,22 - 22,43	21,36 - 28,60
Σ AG poliinsaturados	35,72 - 56,84	73,55 - 73,8	61,26 - 73,53	56,08 - 70,30	44,27 - 59,78
Σ AG insaturados/ Σ AG saturados	3,93 - 4,02	6,07 - 7,49	5,83 - 8,19	3,34 - 7,11	2,60 - 3,61

Fontes: a) Kim *et al.*, 2012; Procida *et al.*, 2013; Stevenson *et al.*, 2007. b) Malacrida & Jorge, 2012; Nyanzia *et al.*, 2005; Piombo *et al.*, 2006; Ferrari *et al.*, 2004. c) Fernandes *et al.*, 2013; Pardo *et al.*, 2009; Baydar *et al.*, 2007; Dalmolin *et al.*, 2010. d) El Mannoubi *et al.*, 2009; Ennouri *et al.*, 2005; Chougui *et al.*, 2013; Coskuner & Tekin, 2003; Ramadan & Morsel, 2003a; Matthausa & Ozcan, 2011; Yeddes *et al.*, 2012; El Finti *et al.*, 2013. e) Fahimdanesh & Bahrami, 2013; Giannelos *et al.*, 2005; Roy *et al.*, 1996; Demirbas, 2010.

Na tabela anterior é possível confirmar, as indicações dadas por Sáenz e Sepúlveda (2013) no seu estudo, onde referem que o perfil de ácidos gordos no óleo de sementes do figo-da-Índia, é semelhante ao óleo da grainha de uva. Em ambos os casos, os ácidos gordos mais abundantes foram o ácido linoleico, oleico e palmítico.

No trabalho realizado por Labuschagne e Hugo (2010), é feita uma comparação entre óleos de sementes de *Opuntia ficus-indica*, de 11 cultivos diferentes, com o óleo de semente de uva e algodão. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 6.

**Tabela 6 - Comparação do óleo de sementes do figo-da-Índia, uva e algodão.**

ÁCIDO GORDO	OPUNTIA FICUS-INDICA	UVA	ALGODÃO
Palmítico (C16:0)	11-16	8-12	15-23
Esteárico (C18:0)	3-4	3-6	2-4
Oleico (C18:1)	12-16	12-20	15-20
Linoleico (C18:2)	61-69	68-78	49-58
Linolénico (C18:3)	<1	>1	<1

Fonte: Labuschagne & Hugo, 2010.

Segundo este estudo, o óleo das sementes do figo-da-Índia, revelou teores elevados de ácidos gordos insaturados e valores reduzidos em saturados. Exibiu valores inferiores a 1%, no que se refere ao ácido linolénico, que ajuda a prevenir a ranço. É comparável ao óleo de sementes de uva, que ocupa um nicho no mercado de óleos saudáveis, podendo representar uma alternativa viável aos óleos já existentes no mercado (Labuschagne & Hugo, 2010).

### 1.2.5 Composição e propriedades biológicas das sementes de *Opuntia* e do seu óleo

A constituição nutricional da *Opuntia* tem sido amplamente estudada, bem como as suas propriedades biológicas. É uma fonte importante de compostos bioativos, como betalaínas, polifenóis, carotenóides, vitamina C e sais minerais (Utkarsha *et al.*, 2010; Cayupan *et al.*, 2011).

As suas propriedades biológicas, como actividade antioxidante ou anti-cancerígena, têm sido impulsionadoras do seu uso na prevenção e tratamento de algumas doenças, como a diabetes, hiperglicemia, colesterol, arteriosclerose ou gastrites (Stintzing *et al.*, 2005; Feugang *et al.*, 2006).

Perante todas as mais-valias apresentadas, tanto pela planta como pelo fruto, as sementes têm sido colocadas um pouco de parte, sendo geralmente descartadas. Muito embora não exista muito estudo sobre as suas propriedades, já foi demonstrado que, tanto as sementes como o seu óleo,

possuem actividades que ajudam no combate do colesterol e hiperglicémia (Ennouri *et al.*, 2007; Ennouri *et al.*, 2006 a,b).

#### 1.2.5.1 Composição geral da semente – humidade, cinzas, gordura bruta, proteína e fibras

A composição das semente foi alvo de estudo de alguns autores, que se dedicaram à análise aproximada da sua composição, com o intuito de obter informações mais pormenorizadas sobre as sementes.

Atráves desses estudos, foi possível aferir que a sua constituição varia durante o período de maturação e, por isso, é importante ter em conta este parâmetro quando se efectua uma análise comparativa (Coskuner e Tekin, 2003).

Na Tabela 7, estão apresentados os valores das análises aproximadas, efectuadas por 3 estudos distintos, que permitem balizar os valores para os diferentes parâmetros nutricionais das sementes.

**Tabela 7 – Valores das análises aproximadas efetuadas às sementes de *Opuntia ficus-indica* e *Opuntia Stricta*.**

PARÂMETROS	ESPÉCIES			
	OPUNTIA FICUS-INDICA			OPUNTIA STRICTA
	Sawaya <i>et al.</i> , 1983	El Kossori <i>et al.</i> , 1998	Ennouri <i>et al.</i> , 2005	
Humidade	5,3 ± 0,51	-	7,00 ± 0,45	5,00 ± 0,30
Cinzas	3,0 ± 0,16	5,90 ± 1,25	1,10 ± 0,10	1,64 ± 0,15
Proteínas	16,6 ± 0,40	11,8 ± 1,17	5,40 ± 0,40	3,90 ± 0,20
Lípidos	17,2 ± 0,22	6,77 ± 0,51	10,90 ± 0,10	11,05 ± 0,09
Fibras	49,6 ± 1,46	54,2 ± 1,06	-	-

#### 1.2.5.2 Determinação do perfil de ácidos gordos presentes nas sementes de *Opuntia*

A qualidade de um óleo encontra-se interligada com o seu perfil de ácidos gordos e componentes bioactivos, com benefícios para a saúde, uma vez que são estas as propriedades de maior interesse para aplicações nas indústrias alimentar, cosmética e farmacêutica (El Mannoubi *et al.*, 2009).

Perante este facto, não é de estranhar que a maioria das investigações realizadas, tenham como objecto de estudo o perfil de ácidos gordos dos óleos proveniente das sementes do fruto de *Opuntia*.

O teor de ácidos gordos livres no óleo é variável, aumentando com a actividade das enzimas da planta e com o tempo decorrido entre o esmagamento das sementes e a sua extracção (Sovová *et al.*, 2010)

Na Tabela 8 são apresentadas os vários ácidos gordos e alguns compostos bioactivos, presentes nas diversas espécies do género *Opuntia*.

Os dois ácidos gordos encontrados em maiores quantidades, no cômputo geral, nas espécies de *Opuntia* apresentadas, foram o ácido oleico e linoleico. Devido às suas propriedades químicas, estes dois ácidos têm sido alvo de um interesse crescente, nos últimos anos.

Na última década, ocorreu um grande aumento de alimentos funcionais, orientados para um consumidor cada vez mais exigente e consciente da sua saúde. Entre esses géneros alimentares, podem ser encontradas diversas categorias, de acordo com o seu objectivo final, incluindo o sistema cardiovascular.

Quando consumidos regularmente e num contexto de uma dieta e estilo de vida saudáveis, estes alimentos, permitem a manutenção ou melhoramento da saúde cardiovascular, através da redução dos níveis de factores de risco, como o colesterol (Lopez-Huertas, 2010).

Existem amplas evidências científicas, que comprovam o efeito da modulação da composição de gordura na dieta, afectando directamente as concentrações de lípidos no sangue (Labuschagne & Hugo, 2010).

A acção dos ácidos gordos monoinsaturados (AGMI), caso do ácido oleico, e dos poliinsaturados (AGPI), como o ácido linoleico, foi estudada através da substituição de gorduras saturadas, por gorduras insaturadas (Kris-Etherton, 1999; Vessby *et al.*, 2001).

Esta permuta foi alcançada através da adição destes compostos na dieta, através da ingestão de alimentos contendo gorduras com um elevado grau de insaturação, como o óleo de semente de *Opuntia*. (Ennouri *et al.*, 2006a,b)



**Tabela 8 – Composição dos ácidos gordos presentes em óleos de semente, de várias espécies de *Opuntia*.**

ÁCIDO GORDO	O. JOCONOSTLE <sup>A</sup>	O. MATUDAE <sup>A</sup>	O. DILLENI <sup>B</sup>	O. FICUS-INDICA <sup>C</sup>	O. ELATOR <sup>D</sup>	O. STRICTA <sup>E</sup>
Ácido hexanóico (C6:0)	0,57	0,09	-	-	-	-
Ácido octanóico (C8:0)	0,01	Vestígios	-	-	-	-
Ácido decanóico (C10:0)	0,01	Vestígios	-	-	-	-
Ácido dodecanóico (C12:0)	0,09	Vestígios	-	-	-	0,19
Ácido tridecanóico (C13:0)	0,01	Vestígios	-	-	-	-
Ácido tetradecanóico (C14:0)	0,04	0,04	-	0,11 - 0,27	-	0,32
Ácido tetradecenóico (C14:1)	-	Vestígios	-	-	-	-
Ácido pentadecanóico (C15:0)	0,01	0,01	-	-	-	-
Ácido pentadecenóico (C15:1)	0,01	0,01	-	-	-	-
Ácido hexanóico (C16:0)	12,35	9,42	13,52 - 19,78	9,32 - 15,91	12,18	7,21
Ácido hexenóico (C16:1)	0,41	0,31	0,27	0,75 - 1,80	-	0,38
Ácido Heptadecanóico (C17:0)	0,04	0,02	-	0,05 - 0,07	-	-
Ácido octadecanóico (C18:00)	3,28	2,04	2,75 - 9,01	2,59 - 5,4	3,47	3,83
Ácido octadecenóico (C18:1)	9,72	7,82	-	16,8 - 28,6	16,88	12,80
Ácido octadecadienóico (C18:2)	72,49	79,15	2,65 - 79,83	49,3 - 70,3	65,81	74,80
Ácido octadecatrienóico (C18:3)	0,36	0,41	66,56	0,20 - 2,58	-	-
Ácido eicosanóico (C20:00)	0,26	0,19	-	0,17 - 0,66	-	-
Ácido Eicosenóico (C20:1)	0,07	0,05	-	0,16 - 0,8	-	-
Ácido eicosadienóico (C20:2)	-	-	-	0,20-0,30	1,66	-
Ácido docosanóico (C22:0)	0,19	0,04	-	0,15 - 0,53	-	-
Ácido docosenóico (C22:1)	0,05	0,04	-	-	-	-
Ácido tricosanóico (C23:0)	nd	0,13	-	-	-	-
Ácido tetracosanóico (C24:0)	0,09	0,06	-	0,19	-	-
Ácido tetracosenóico (C24:1)	0,02	0,01	-	-	-	-
Σ AG saturados	16,86	12,1	16,27 - 28,79	12,43 - 22,8		11,55
Σ AG insaturados	83,13	87,9	69,48 - 80,10	76,18 - 88,52		87,98
Σ AG monoinsaturados	10,28	7,64	0,27	18,22 - 22,43		13,18
Σ AG poliinsaturados	72,85	80,26	69,21 - 79,83	56,08 - 70,30		74,80
Σ AG insaturados/Σ AG saturados	4,93	7,26	2,78 - 4,27	3,34 - 7,11		7,61

Fontes: a) Morales *et al.*, 2012. b) Ghazi *e tal.*, 2013; Liu *et al.*, 2009. c) El Mannoubi *et al.*, 2009; Ennouri *et al.*, 2005; Chougui *et al.*, 2013; Coskuner & Tekin, 2003; Ramadan & Morsel, 2003a; Matthausa & Ozcan, 2011; Yeddes *et al.*, 2012; El Finti *et al.*, 2013. d) Bhatt & Nagar, 2013. e) Ennouri *et al.*, 2005.

Através destes estudos, foi possível estabelecer uma relação inversa, observada entre o consumo de AGMI e AGPI, e o risco de doenças cardiovasculares.

Foi estimada uma redução de 20-40% no risco de doença cardíaca coronária, principalmente por meio da redução nível do colesterol de baixa densidade (LDL) (Wahrburg, 2004).

Desta forma, através da alteração dos padrões alimentares, como a utilização de óleos alimentares ricos em ácido oleico, AGMI e AGPI, e a utilização de tecnologia de alimentos para modificar o perfil de ácidos gordos dos alimentos naturalmente ricos em ácidos gordos saturados em favor de ácidos insaturados, é possível reduzir os problemas cardiovasculares, que atingem a população mundial (Lopez-Huertas, 2010).

### **1.2.5.3 Propriedade biológicas**

Geralmente descartadas dos frutos, as sementes do figo-da-Índia não têm sido tão bem estudadas, como as outras partes desta planta (Ennouri *et al.*, 2007). No entanto, encerram propriedades bastante interessantes merecedoras de um estudo e exploração mais aprofundados, uma vez que já foi demonstrada a sua capacidade de reduzir os índices de glicémia e colesterol no sangue (Ennouri *et al.*, 2006a,b).

Na sua constituição possuem aminoácidos sulfurados, tais como metionina e cisteína (Ennouri *et al.*, 2006b), apresentam-se como uma boa fonte de óleo, rico em ácidos gordos poliinsaturados, com elevados teores de polissacarídeos, como fibras de celulose, hemicelulose e pectina, e lignina (El Kossori *et al.*, 1998) e ainda incluem, vitaminas, minerais (Ennouri *et al.*, 2006b) e esteróis, principalmente  $\beta$ -sitoesterol (Ramadan & Morsel, 2003a; Ghazi *et al.*, 2013; El Mannoubi *et al.*, 2009).

A quantificação das substâncias biologicamente activas, como esteróis, tocoferóis e carotenóides, ganha vital importância, pois a sua presença incrementa muito valor ao óleo. (Ghazi *et al.*, 2013).

Hoje em dia, o poder antioxidante dos alimentos é uma propriedade biológica cada vez mais importante, visto que estes conseguem evitar ou retardar o efeito das espécies reactivas de oxigénio, também conhecidos por radicais livres, como o superóxido, o peróxido de hidrogénio e os radicais hidroxilo, que podem causar, por oxidação, danos em estruturas celulares e moléculas funcionais como o DNA, proteínas e lípidos (Finkel & Holbrook, 2000).

O stress oxidativo é uma causa maior de muitas doenças como o cancro, a diabetes, doenças cardiovasculares, doença de Alzheimer e outras doenças neuro degenerativas e ainda responsáveis pelo envelhecimento precoce (Halliwell, 1994).

Os antioxidantes têm um papel na neutralização destes radicais livres adoptando um papel anti-inflamatório, antiaterosclerótico, antitumoral, antimutagénico e anticarcinogénico (Liu *et al.*, 2002; Ratnam *et al.*, 2006).

Os antioxidantes vão actuar na iniciação ou a propagação da reacção de oxidação em cadeia, inibindo-a, conseguindo então, prevenir ou reparar danos às células pelas espécies reactivas de oxigénio (Andrade *et al.*, 2007).

Podem ser agrupados em hidrofílicos, por exemplo a grande maioria dos compostos fenólicos ou vitamina C, ou em lipofílicos, como os carotenóides ou a vitamina E. Devido a este facto, a eficiência destes compostos antioxidantes, vai estar directamente relacionada com a sua estrutura química, orientação relativa e do número de grupos hidroxilo ligados ao anel aromático.

Os compostos fenólicos são estruturas químicas, que apresentam grupos hidroxilos e anéis aromáticos, nas formas simples ou conjugada, que lhes confere o poder antioxidante. Estes compostos são muito importantes, pois conferem propriedades antioxidantes e sensoriais, como a cor, aroma e adstringência, em frutas, bebidas e vegetais. As famílias mais representativas destes compostos são os flavonóides, ácidos fenólicos, taninos e os tocoferóis.

Na Tabela 9 estão apresentados os teores de algumas dessas substâncias, nomeadamente esteróis e tocoferóis, determinados em quatro espécies de *Opuntia*, onde é possível perceber que os fitosteróis estão em maior quantidade, nomeadamente o  $\beta$ -sitosterol.

**Tabela 9 – Compostos bioactivos, presentes em óleos de sementes de quatro espécies de *Opuntia*.**

COMPOSTO	OPUNTIA FICUS-INDICA <sup>A</sup>	OPUNTIA JOCONOSTLE <sup>B</sup>	OPUNTIA MATUDAE <sup>B</sup>	OPUNTIA DILLENII <sup>C</sup>
Colesterol	0,01	-	-	-
Campesterol	1,66 - 3,75	-	-	0,51
Stigmasterol	0,30 - 1,64	-	-	-
Lanosterol	0,28	-	-	-
$\beta$ -Sitosterol	6,75 - 21,93	-	-	2,80
Sitostanol	0,57	-	-	-
Fucosterol	-	-	-	0,27
$\Delta^5$ -Avenasterol	0,29 - 0,82	-	-	-
$\Delta^7$ -Avenasterol	0,05 - 0,23	-	-	-
$\alpha$ -Tocoferol	0,056	0,09	0,19	-
$\beta$ -Tocoferol	0,012	0,01	0,02	-
$\gamma$ -tocoferol	0,33 - 1,23	3,07	6,43	0,29
$\delta$ -tocoferol	0,005	0,06	0,08	-

Fontes: a) Ramadan & Morsel, 2003a; b) Morales *et al.*, 2012.c) Ghazi e *tal.*, 2013; El Mannoubi *et al.*, 2009

Os fitoesteróis são estruturalmente semelhantes ao colesterol, mas com ligeiras modificações. Estas alterações envolvem a cadeia lateral e incluem a adição de uma dupla ligação e/ou de grupos metilo ou etilo.

Estes compostos são amplamente aplicados na indústria alimentar e cosmética, mas o seu interesse tem aumentado devido às suas propriedades nutracêuticas (Moghadasian, 2000; Piironen *et al.*, 2000).

Os elementos mais comuns na dieta humana, deste grupo de componentes, são  $\beta$ -sitosterol, campesterol e estigmasterol, sendo o  $\beta$ -sitosterol (Figura 15) o mais abundante em legumes e óleos de sementes (Awad *et al.*, 2007; Moon *et al.*, 2007).

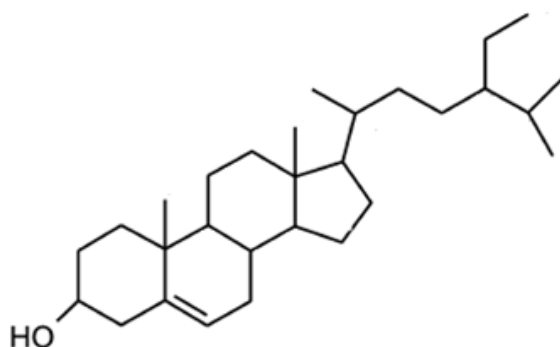


Figura 15 – Estrutura química do  $\beta$ -sitosterol. (Hac-Wydro *et al.*, 2011)

O  $\beta$ -sitosterol tem revelado qualidades revelantes no tratamento a doenças oncológicas, redução nos níveis de colesterol e protecção contra doenças cardiovasculares (Moon *et al.*, 2007).

Awad, Chinnam, Fink e Bradford (2007), consideram que a sua acção pode estar relacionada com a inibição do crescimento de células tumorais específicas *in vitro*, bem como a diminuição do tamanho e da extensão de metástases de tumores *in vivo*. Os resultados apoiam a hipótese de que a sua inclusão na dieta, pode servir como prevenção para o cancro de mama.

Por sua vez, Choi e colaboradores (2003) demonstraram que  $\beta$ -sitosterol, induz a apoptose em células de cancro do cólon humano, o que parece contribuir para a sua inibir a sua actividade proliferativa. Enquanto que Von Holtz, Fink e Awad (1998) apresentaram a hipótese do  $\beta$ -sitosterol inibir o crescimento do cancro da próstata LNCaP.

#### 1.2.5.3.1 Actividade antiolesterémica

Para avaliar a redução dos níveis de colesterol, Ennouri e colaboradores (2006a,b) realizaram um estudo, no qual foi enriquecida a dieta de ratos, com lípidos, através da adição de sementes de *Opuntia ficus-indica*, tanto em forma de óleo, como numa mistura de pó e semente inteira.

Este acréscimo resultou numa diminuição do colesterol total, sendo esta redução apenas sentida ao nível do colesterol de baixa densidade (LDL), não tendo efeito no colesterol de alta densidade (HDL). Este facto é benéfico para a saúde, pois o colesterol HDL transporta o colesterol das células periféricas para o fígado.

Sendo o índice aterogénico mais baixo no grupo tratado com a dieta suplementada com óleo e sementes, em relação ao grupo de controlo, conclui-se que, esta suplementação constitui uma potencial aplicação para a aterosclerose e outras doenças cardiovasculares devido ao efeito benéfico no perfil lipídico sérico observado dos ratos.

Ramadan e Morsel (2003a) formularam uma relação provável, entre a abundância de fitosteróis, nomeadamente o  $\beta$ -sitosterol, presentes no óleo das sementes e a redução dos níveis de colesterol LDL, facto já comprovado por outros estudo como, Weststrate e Meijer (1998) e Moghadasian *et al.* (1999).

Por sua vez, Wasan, Najafi, Wong, Kwong e Pritchard (2001) consideram que os fitosteróis provocam uma diminuição na solubilidade do colesterol, bem como a sua absorção ao longo do intestino, induzindo valores de colesterol plasmático baixos, atrasando o desenvolvimento de possíveis lesões provocadas por aterosclerose (Moghadasian *et al.*, 1997).

Além dos compostos anteriormente referidos, o  $\beta$ -caroteno e a vitamina E, presentes no óleo das sementes do figo-da-Índia, podem interferir na diminuição do colesterol, uma vez que auxiliam na prevenção da alteração estrutural das lipoproteínas (Ramadan e Mörsel, 2003a).

Em determinados estudos, foi demonstrada a capacidade neuroprotectora e antitumoral da vitamina E, bem como o seu poder antioxidante e papel protector no desenvolvimento da aterosclerose (Ozer *et al.*, 2003; Choi & Lee, 2009), reforçando, desta forma, o efeito positivo dos fitosteróis.

O efeito positivo nos níveis de colesterol está igualmente, relacionado com a presença de ácidos gordos poliinsaturados (Ennouri *et al.*, 2006a). O ácido linoleico, de um modo geral, é o mais abundante neste óleo e estudos têm demonstrado que este funciona como protector de doenças cardiovasculares (Wijendran & Hayes, 2004; Sabir *et al.*, 2012).

#### **1.2.5.3.2 Actividade hipoglicémica**

Os ensaios efectuados por Ennouri e colaboradores (2006a,b), foram novamente essenciais para a determinação deste efeito no organismo.

Em ambos os casos, a suplementação da dieta de ratos com óleo de sementes ou com uma mistura de sementes em pó e inteiras, permitiu o registo de um decréscimo significativo na concentração sérica de glucose, em relação ao grupo de controlo, após ingestão de sementes.

Os resultados acusaram um incremento dos valores de glicogénio hepático e no músculo-esquelético, o que pode ser explicado pelo acréscimo da produção de insulina, responsável pelo estímulo da incorporação da glucose em glicogénio nos músculos esqueléticos e fígado, afim de regular os níveis de glucose no sangue.

Desta forma, a suplementação da dieta com sementes do figo-da-Índia pode ser promissora no controlo e regulação dos níveis séricos de glucose.

### **1.2.5.3.3 Actividade antioxidante**

Os antioxidantes são moléculas, como por exemplo, ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), carotenóides, trolox e ácido gálico, capazes de neutralizar/reduzir os radicais livres presentes no organismo.

Existem dois mecanismos pelos quais os antioxidantes conseguem neutralizar os radicais livres. O primeiro baseia-se na neutralização do radical livre, mediante a doação de um átomo de hidrogénio (um protão e um electrão).

O segundo, baseia-se no potencial que o agente antioxidante tem em ceder um electrão, de modo a reduzir qualquer outro composto, nomeadamente metais, grupos carbonilo ou até radicais (Huang *et al.*, 2005; Prior *et al.*, 2005; Apak *et al.*, 2007).

A determinação da actividade antioxidante de uma amostra pode ser realizada através de ensaios seguindo o primeiro ou o segundo mecanismo.

Alguns dos métodos mais utilizados para a determinação desta actividade, são o método de Folin-Ciocalteu, o ensaio de redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) ou o ensaio do FRAP (*actividade antioxidante de redução férrica*). O ensaio de redução do DPPH baseia-se no primeiro mecanismo, enquanto que os métodos do FRAP e Foulín-Ciocalteu baseiam-se no segundo.

Considerando o primeiro mecanismo, o ensaio de redução do radical DPPH, foi inicialmente introduzido por Marden Blois, em 1958 (Blois, 1958), tendo sido já modificado e adaptado a diferentes matrizes por vários autores (Molyneux, 2004).

É caracterizado como sendo um radical livre estável, pela deslocalização do electrão livre impossibilitando a molécula de dimerizar, como aconteceria com outros radicais livres, dando origem a uma cor violeta escura. Este composto apresenta um máximo de absorvância entre 515 e 520 nm (Molyneux, 2004).

Quando a solução é misturada com uma solução dadora de um átomo de hidrogénio (amostra em estudo), dá origem a uma forma reduzida com perda da cor violeta, dando origem a uma solução de cor amarela pálida (Molyneux, 2004).

A perda de cor pode ser monitorizada ao longo do tempo, por espectrofotometria, e está correlacionada com a capacidade anti-radicalar da amostra testada (Apak *et al.*, 2007; Tirzitis & Bartosz, 2010).

A capacidade anti-radicalar da amostra, pode ser representada sob a forma de percentagem de inibição do radical (I), após um determinado tempo de reacção.

De seguida, é apresentada a fórmula que permite o cálculo deste parâmetro:

$$I = 100 \times \{(B - A)/B\} \quad \text{Eq. 1.1}$$

Nesta fórmula, a incógnita B é o valor de absorvância do branco e A é o valor de absorvância da amostra.

De forma a calcular as percentagens de inibição do radical por parte desse padrão, recorre-se a padrões de concentração conhecida, de modo a construir rectas de calibração, e apresentar os resultados, não sob a forma de percentagem de inibição, mas sob a forma de equivalentes desse padrão.

Uma das desvantagens deste método é o facto de utilizar um radical sintético, e portanto sem grande relevância biológica.

No entanto, trata-se de um ensaio simples, pouco dispendioso e rápido, e por isso largamente difundido no âmbito da caracterização da actividade antioxidante de diversas matrizes.

No que se refere ao segundo mecanismo, Folin-Ciocalteu é um método colorimétrico de determinação de compostos fenólicos totais. Este método, é um dos mais antigos e mais utilizados para a determinação de compostos fenólicos em alimentos (Singleton *et al.*, 1999).

É constituído por uma mistura de ácido fosfotúngstico ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) e ácido fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) que, ao oxidar os fenóis, é reduzida a uma mistura de óxidos azuis de tungsténio ( $W_8O_{23}$ ) e de molibdénio ( $Mo_8O_{23}$ ).

Por outras palavras, é um método baseado na redução de um complexo de molibdénio-tungstato-fósforo, em meio básico, por parte dos compostos fenólicos presentes na amostra (Prior *et al.*, 2005; Buratti *et al.*, 2007; Kishore *et al.*, 2011).

A monitorização da reacção é realizada por colorimetria uma vez que o complexo reduzido apresenta uma coloração azul intensa e absorvância máxima ao comprimento de onda de 765 nm.

Desta modo, quanto maior for o teor de compostos fenólicos presentes na amostra, maior será a absorvância a este comprimento de onda (Huang *et al.*, 2005; Buratti *et al.*, 2007).

A realização de rectas de calibração, permite expressar o teor de compostos fenólicos totais na amostra em equivalentes do padrão escolhido, sendo o mais utilizado o ácido gálico. A apresentação dos resultados, é feita sob a forma de equivalentes desse padrão.

O ensaio FRAP, tal como os testes anteriores, é considerado um teste que permite medir o poder antioxidante de uma matriz alimentar.

Este ensaio baseia-se na redução, em meio ácido, de um complexo férrico de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) a um complexo ferroso de TPTZ, com uma forte coloração azul escura (Figura 16)

Quanto maior for a capacidade antioxidante da amostra, maior a produção do complexo ferroso de TPTZ, podendo ser monitorizado através da leitura da absorvância a um comprimento de onda de 593 nm (Huang *et al.*, 2005; Prior *et al.*, 2005; Apak *et al.*, 2007).

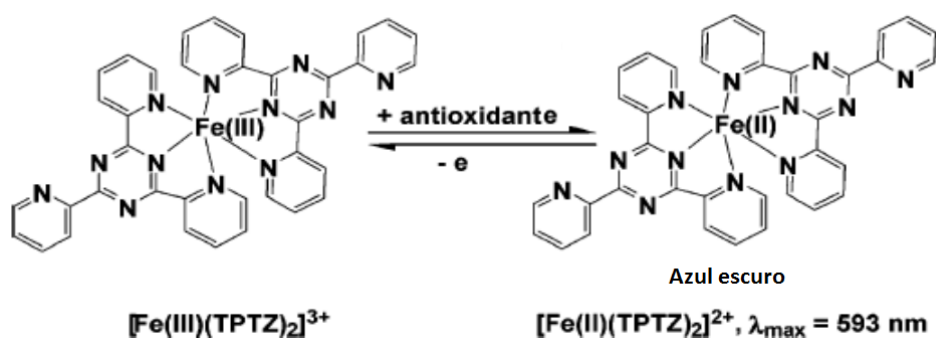


Figura 16 – Princípio de poder de redução férrica (Huang *et al.*, 2005).

A construção de rectas de calibração, é possível através da substituição da amostra por concentrações conhecidas de padrões, contendo ferro no estado reduzido, nomeadamente sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ ), sendo a capacidade redutora expressa em equivalentes de iões ferrosos ou equivalentes desse composto.

Uma das limitações desta técnica consiste no facto de apenas avaliar a capacidade da amostra em reduzir iões férricos e não a sua capacidade em neutralizar radicais livres ou outras espécies antioxidantes.

No entanto, apresenta as mesmas vantagens que os outros métodos, isto é, trata-se de um ensaio simples, reprodutível e pouco dispendioso, quando comparado com outros métodos de avaliação da actividade antioxidante.



### 1.3 Objectivos da dissertação

A procura da valorização deste produto é o principal ponto de partida, para o desenvolvimento desta dissertação. As potencialidades nutracêuticas, aliadas à sua importância para as populações de áreas com climas e solos muito desfavoráveis, foram determinantes para a escolha do objecto de estudo.

A necessidade de compreender de onde partimos e até onde podemos chegar, conduz-nos à questão do que realmente sabemos sobre a *Opuntia ficus indica*.

Ao iniciar as primeiras pesquisas sobre a *Opuntia ficus indica*, facilmente se descobre a multiplicidade de caminhos que já foram explorados no âmbito das suas diversas aplicações, que partiram do seu consumo como fruta fresca, mas actualmente aplicam-se em áreas tão diversas como as indústrias da cosmética ou farmacêutica.

Desta forma, a *Opuntia ficus indica* deixou de ter uma vertente meramente alimentar. A investigação científica tem vindo a demonstrar todo o potencial biológico desta fruta, ignorada durante um vasto período.

Existem diversos estudos sobre as propriedades físico-químicas e possíveis aplicações da fruta e dos cladódios, encontra-se, porém, um fosso quando a procura está relacionada com as suas sementes.

Contrariando essa tendência, e numa atitude exploratória, a presente dissertação focou-se na semente, nomeadamente no seu óleo, e em todo o seu potencial nutracêutico.

Os instrumentos utilizados nesta investigação basearam-se na recolha e análise do historial da *Opuntia ficus-indica*, nomeadamente das suas sementes. Após este passo, seguiram-se diversos procedimentos experimentais com vista o isolamento das sementes, extração do seu óleo essencial e posterior análise da sua composição.

Os objectivos específicos para a fundamentação da dissertação pretendem assim:

Enquadrar e valorizar a crescente importância da *Opuntia ficus-indica*, ao longo do tempo;

Conhecer e compreender todas as potencialidades que a *Opuntia ficus-indica* e seus produtos representam, na área alimentar e noutro género de indústrias;

Descrever a necessidade de aproveitamento das sementes e que benefícios advêm dos tratamento e exploração deste resíduo;

Avaliar a qualidade nutricional das sementes dos diferentes tipos de *Opuntia*;

Realizar a extração do óleo essencial das sementes, através de diferentes metodologias e solventes, e identificar o seu perfil de ácidos gordos, enquadrando-o nos diversos tipos de óleos existentes.

Definir, dos métodos utilizados e figos analisados, qual apresenta o melhor binómio rendimento vs qualidade do óleo.

A presente dissertação encontra-se estruturada em quatro partes distintas: a introdução, onde é apresentado o objecto de estudo, as sementes da *Opuntia ficus-indica*, os métodos experimentais, os resultados e a conclusão.

Esta exposição constitui, portanto, um avanço na pesquisa das diversas propriedades do fruto de *Opuntia ficus-indica*, nomeadamente o óleo proveniente das suas sementes.

A caracterização do perfil dos ácidos gordos extraídos e o estudo das suas propriedades nutracêuticas, são um passo muito importante na aposta do cultivo de *Opuntia ficus-indica*, um alimento funcional com diversas aplicações ainda por explorar.

## **CAPÍTULO 2 MÉTODOS**

“Como arte, a metodologia sistematiza e organiza as normas que põe ao serviço da investigação, fornecendo ensinamentos práticos e teóricos, consoante a exigência do trabalho científico que se pretende realizar.” (Carvalho, 1994)

A metodologia utilizada ao longo deste trabalho, encontra-se descrita neste capítulo, no qual é desenvolvido o modo de execução de todo o processo de análise, desde a amostragem, passando pela caracterização física dos frutos, até à extração do óleo de semente e a sua caracterização.

Além dos métodos, são igualmente apresentados os reagentes, solventes e equipamentos utilizados para a realização do presente trabalho experimental.

## **2.1. Materiais, equipamentos, reagentes e solventes**

Os reagentes utilizados durante os ensaios efectuados foram: o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), da Fluka, o reagente Folin-Ciocalteu, fornecido pela Chem-Lab e a 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), produzido pela Sigma-Aldrich. Os restantes reagentes, sulfato ferroso, carbonato de sódio e sulfato de sódio anidro, foram distribuídos por J. M. Gomes dos Santos.

Os solventes utilizados distribuídos por J. M. Gomes dos Santos foram o metanol, o clorofórmio, os hidróxidos de potássio e sódio, a acetona e o ácido bórico, enquanto que os fornecidos pela Fisher Chemical foram o ácido sulfúrico e o acetato de etilo. Utilizou-se o ácido gálico produzido pela Fluka e o etanol pela Panreac..

Para a determinação da proteína bruta foi necessário utilizar um digestor - Kjeltac System 1002 Distilling Unit Tecator, da Tecator Digestion Systems. A Humidade foi efectuada na Estufa WTB binder E28, enquanto que as cinzas foram determinadas usando uma mufla da Heraeus Electronic.

Para efectuar as várias leituras espectrofotométricas, utilizou-se um Espectrofotómetro, Modelo Spekol 1500, produzido pela Analytic Jena. Para homogeneizar melhor as soluções, utilizou-se um Vórtex, fabricado pela Heidolph Reax.

A obtenção de um óleo isento de solvente, requereu a utilização do evaporador rotativo, designado de Rotavapor R-200 da Büchi. A análise cromatográfica dos óleos foi efectuada num cromatógrafo gasoso, Focus GC, anexado a um espectrómetro de massa Polaris, ambos fabricados pela Thermo Quest. A coluna utilizada no cromatógrafo foi a HP-5MS (30 m x 0,32 mm I.D., 0,25 µm), da J & W Scientific.

## 2.2. Amostragem

O estudo foi efectuado em três variedades distintas de *Opuntia*, de acordo com a sua cor, forma e tamanho dos frutos.

Os figos foram colhidos em Setembro de 2012, na região do Algarve, nomeadamente em Tavira. Para cada variedade, foi recolhida uma amostra representativa de cerca de 30 frutos nos casos do figo verde e laranja e 50 frutos no caso do figo roxo.

## 2.3. Caracterização física do figo-da-Índia

A caracterização física dos frutos baseou-se na medição das suas dimensões, nomeadamente a altura, largura e peso, bem como das proporções dos seus principais constituintes como a pele, polpa, sementes e mucilagem (Figura 17)

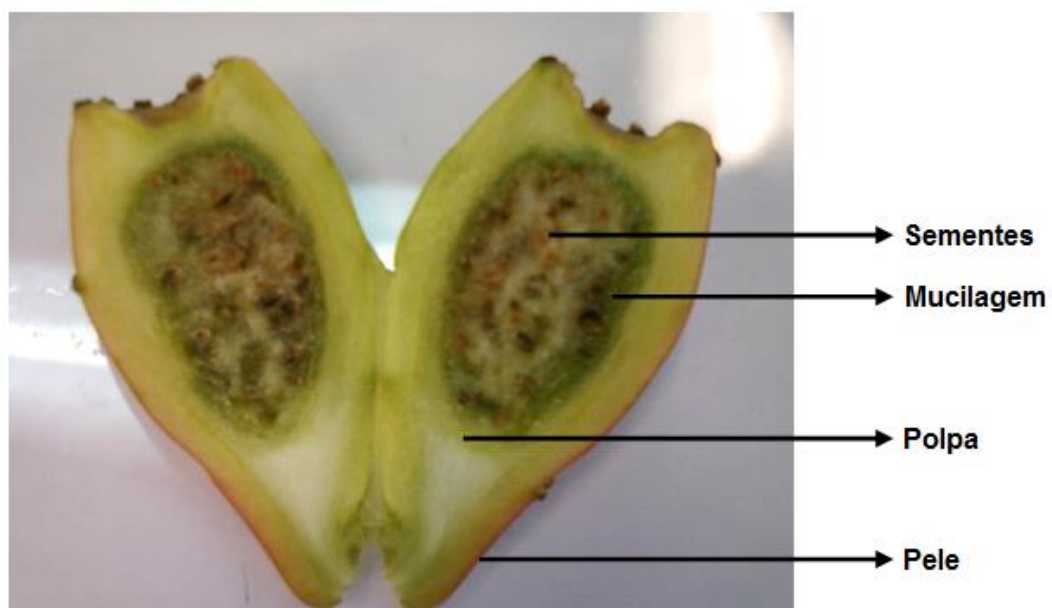


Figura 17 – Principais constituintes do figo-da-Índia.

Com o intuito de garantir que a representatividade dos valores obtidos, foram analisados dez unidades de cada espécie de figos.

Perante a ausência de confirmação da identificação das espécies em estudo, foi necessário uma análise não só dos frutos, mas também da planta, uma vez que o seu elevado grau de hibridação dificulta muito uma correcta identificação (Feugang *et al.*, 2006; Anderson, 2001).

Desta forma, foram retiradas fotografias dos diferentes cultivos, para comparação com bases de dados do género *Opuntia*.

A identificação das espécies, teve como base a comparação da forma e distribuição dos cladódios, a presença ou ausência de espinhos nos cladódios e sua distribuição. Por último, a análise ficou completa com o fruto, onde foi se observou a forma, cor, dimensões e presença de espinhos.

## 2.4. Preparação da amostra

Após a remoção dos espinhos, pele e polpa, procedeu-se à separação das sementes e mucilagem. Devido à natureza coloidal da mucilagem (Fig 18.), que impossibilita a separação eficiente destes duas matérias, recorreu-se à centrifugação para atingir este objectivo (centrífuga EBA 20, Hettich Zentrifugen).



Figura 18 – Mistura mucilagem e sementes, à esquerda da imagem, e sementes após a centrifugação e lavagem com água.

De seguida, lavaram-se as sementes em água corrente, com o intuito de retirar a restante mucilagem que, mesmo após a centrifugação, envolvia parte das sementes.

Após a lavagem, as sementes secaram-se à temperatura ambiente, por um período de 7 dias, sendo pesadas (balança Mettler Toledo, AB204-S) e congeladas de seguida.

O passo seguinte à congelação foi a moagem, que foi efectuada num moinho de café (Taurus), com a adição de sulfato de sódio anidro. Para cada 20 gramas de amostra, adicionou-se cerca de 1 grama de sulfato de sódio anidro.

Por fim, as sementes moídas foram armazenadas a -20°C.

## **2.5. Análise nutricional da semente de figo-da-Índia**

A análise nutricional das três amostras de sementes de figo-da-Índia foi composta por humidade, cinzas, fibras, gordura bruta, proteína e hidratos de carbono.

Todos estes ensaios foram realizados em triplicado e tiveram como base os métodos AOAC (AOAC,1990). Seguidamente serão descritos, de uma forma sumária, os procedimentos utilizados para cada ensaio.

### **2.5.1. Humidade**

Numa balança analítica, pesaram-se cerca de 2g de amostra num pesa-filtros, previamente seco em estufa (WTB binder E28), a 103±2°C, e tarado.

A amostra foi seca em estufa a 103±2°C durante duas horas após o que se retirou e deixou arrefecer num exsiccador durante uma hora sendo depois repetida a pesagem do pesa filtros com a amostra. Este procedimento foi repetido até se obter peso constante.

A percentagem de humidade foi determinada do seguinte modo:

$$\% \text{ Humidade} = \frac{P_1 - P_2}{P_1 - P_3} \times 100 \quad \text{Eq. 2.1}$$

em que,  $P_1$  é o peso da amostra juntamente com o pesa-filtro (g),  $P_2$  é o peso da amostra seca juntamente com o pesa-filtro (g) e  $P_3$  é a tara do pesa-filtro (g).

### **2.5.2. Cinzas**

Colocou-se numa mufla (Heraeus Electronic) uma cápsula de porcelana a 550±50°C, durante uma hora e arrefeceu-se a mesma num exsiccador. Seguidamente, pesou-se a cápsula numa balança analítica e colocaram-se cerca de 2 g da amostra a analisar.

Posteriormente colocou-se a cápsula contendo a amostra a analisar, na mufla a 550±50°C, durante duas horas. Após este período, arrefeceu-se a amostra num exsicador e pesou-se a cápsula, contendo as cinzas obtidas, na balança analítica.

A percentagem de cinzas será dada por:

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{P_1 - P_2}{P_3} \times 100 \quad \text{Eq. 2.2}$$

em que,  $P_1$  é o peso da cápsula com cinza (g),  $P_2$  é a tara da cápsula (g) e  $P_3$  é o peso da amostra (g).

### 2.5.3. Fibras

Para a determinação da % de fibras nas sementes, foi seguido o método de *Weende* (descrito na ISO 6865/2000) proposto por Gruber *et al.* (2011).

Pesaram-se cerca de 10g de amostra, numa balança analítica, e adicionou-se 25 mL ácido sulfúrico (0,128 M), seguidos de 25 mL hidróxido de potássio (0,223 M). Após cada adição a mistura foi aquecida até à ebulição, procedendo-se, de seguida, a uma filtração a vácuo num cadinho de *Goosh* tarado.

Após a filtração, o cadinho foi seco numa estufa durante 2 horas, a 130±2°C. Em seguida, as amostras foram arrefecidas num exsicador e pesadas.

Posteriormente, colocaram-se os mesmos cadinhos de *Goosh* numa mufla, a 550±50°C, durante 3 horas. De seguida, as amostras foram arrefecidas e novamente pesadas.

A percentagem de fibra será determinada da seguinte forma:

$$\% \text{ Fibra} = \frac{P_1 - P_2}{P_0} \times 100 \quad \text{Eq. 2.3}$$

onde,  $P_0$  é o peso da amostra (g),  $P_1$  é o peso da amostra após secagem em estufa (g) e  $P_2$  é o peso da amostra após calcinação em mufla (g).

O peso  $P_1$  corresponde ao peso do cadinho com a amostra após a secagem em estufa, menos a tara do cadinho, enquanto que o  $P_2$  é obtido subtraindo o peso do cadinho com a amostra após calcinação em mufla, menos a tara do cadinho.



#### 2.5.4. Gordura bruta

Num extractor de Soxhlet, colocaram-se cerca 10 g da amostra, pesados previamente numa balança analítica, aos quais foram adicionados 250 mL de éter de petróleo (98%).

A gordura bruta presente no figo-da-Índia foi extraída utilizando o aparelho de Soxhlet, durante 15 horas. O solvente, fase orgânica, foi evaporado num evaporador rotativo sob pressão reduzida.

O óleo resultante, foi redissolvido em 5 mL de éter de petróleo, armazenado ao abrigo da luz e à temperatura de -20°C.

A percentagem de óleo será determinada da seguinte forma:

$$\% \text{ Óleo} = \frac{P_1 - P_0}{P_2} \times 100 \quad \text{Eq. 2.4}$$

onde,  $P_0$  é o peso do balão vazio (g),  $P_1$  o peso do balão depois de evaporação (g) e  $P_2$  a quantidade da amostra pesada inicialmente (g).

#### 2.5.5. Proteína bruta

Pesaram-se, numa balança analítica, cerca de 0,2 g de amostra, num tubo de digestão. De seguida, adicionaram-se 10 mL de Ácido Sulfúrico (97%) e cerca de 200 mg de uma mistura catalisadora, composta por Selénio e Sulfato de Potássio, assim como reguladores de ebulição.

Levou-se a aquecer numa placa de aquecimento a 360 °C, até a amostra ficar com um aspecto transparente.

Após o aquecimento, adicionaram-se cerca de 50 mL de água destilada a um balão volumétrico de 100 mL. Transferiu-se a amostra digerida para o balão volumétrico e aferiu-se com a água destilada. Filtrou-se para um frasco e reservou-se.

Posteriormente, colocaram-se 50 mL de amostra digerida e 50 mL de água destilada num tubo de reacção e foram adicionadas 3 gotas de fenolftaleína. Seguidamente procedeu-se à alcalinização do meio, adicionando uma solução de hidróxido de sódio (6 M), até a solução adquirir uma coloração rosa. Colocou-se, num erlenmeyer de 250 mL, 50 mL de Ácido Bórico (20 g/L) e 0,5 mL de solução indicadora de Ácido Bórico, constituída por 0,2 g de vermelho de metilo, em 100 mL de solução alcoólica 95%, e 0,1 g de azul de metileno, em 50 mL de solução alcoólica 95%.

Em seguida, efectuou-se uma destilação por arrastamento de vapor da solução em análise numa unidade destiladora (digestor - Kjeltex System 1002 Distilling Unit Tecator, da Tecator Digestion Systems), sendo recolhido o destilado na solução de ácido bórico;

Após a destilação, efectuou-se uma titulação da solução com ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (0,020 N).

O modo de cálculo da percentagem de proteína bruta será:

$$\% \text{ Proteína bruta} = \frac{V_1 \times N \times V_3}{V_2 \times m_1} \times 1,4 \times 6,25 \quad \text{Eq. 2.5}$$

em que, o V<sub>1</sub> corresponde ao volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,020 N gasto na titulação (mL), o V<sub>2</sub> é o volume da amostra digerida utilizado na destilação (mL), o V<sub>3</sub> representa o volume do balão volumétrico onde ficou reservado o digerido (mL), enquanto o N simboliza a normalidade do titulante e por fim, o m<sub>1</sub> traduz a massa de amostra seca utilizada na digestão (g).

### 2.5.6. Hidratos de Carbono

O valor dos hidratos de carbono foi obtido através da seguinte fórmula, com base no método AOAC (AOAC,1990):

$$\% \text{ HC} = 100 - (H + C + P + G) \quad \text{Eq. 2.6}$$

onde, HC corresponde a hidratos de carbono (%), H é a percentagem de humidade da amostra, o C representa os seus teores de cinza, o P a sua percentagem em proteína bruta e por fim, o G que traduz a sua gordura bruta (g).

## 2.6. Extracção do óleo de semente

A extração do óleo de semente foi efectuada através de dois métodos distintos: através de aplicação de temperatura e por extração à temperatura ambiente.

Além desta variação, utilizaram-se diversos solventes, sendo que apenas o éter de petróleo e a acetona, foram usados em ambos os métodos.

### 2.6.1. Extração Soxhlet

Este método tem um procedimento idêntico ao descrito para a gordura bruta. A única diferença entre métodos, prende-se com o solvente utilizado, uma vez que nesta extração além do éter de petróleo, utilizou-se a acetona.

### 2.6.2. Extração com solventes a frio

Num balão de Erlenmeyer, colocaram-se cerca 10 g da amostra, pesados previamente numa balança analítica, aos quais foram adicionados 100 mL de solvente.

Os solventes utilizados neste procedimento foram a acetona, o éter de petróleo, o metanol, o etanol e uma mistura 1:1 de Clorofórmio/Metanol.

O balão de Erlenmeyer foi selado, colocado ao abrigo da luz e mantido nestas condições durante 48 horas. Após este período de extração, o conteúdo do balão de Erlenmeyer foi filtrado e a solução resultante foi colocada num balão de fundo redondo, previamente tarado, e evaporada num evaporador rotativo sob pressão reduzida.

O óleo resultante, foi suspenso em 5 mL do solvente utilizado, armazenado ao abrigo da luz e a temperaturas de -20°C.

A percentagem de óleo será determinada da seguinte forma:

$$\% \text{ Óleo} = \frac{P_1 - P_0}{P_2} \times 100 \quad \text{Eq. 2.7}$$

**2.7.** onde,  $P_0$  é o peso do balão vazio (g),  $P_1$  o peso do balão depois de evaporação (g) e  $P_2$  a quantidade da amostra pesada inicialmente (g). **Transesterificação dos ácidos gordos do óleo de semente**

Com o intuito de determinar o perfil de ácidos gordos presentes nas amostras, foi necessário proceder à sua transesterificação (Ferrari, Oliveira & Scabio, 2005; Fukuda, Kondo & Nonda, 2001).

Para alcançar esse objectivo, foram utilizados 2,5 mL de extracto bruto do óleo, previamente extraídos das sementes, adicionando-se 5 mL de uma solução metanólica de hidróxido de potássio 2N. De seguida, juntaram-se-se 5 mL de éter de petróleo (98%) e misturou-se a solução no vórtex, por um período de 15 segundos.

A solução obtida foi levada à ebulição, em refluxo, durante um período de 5 minutos, de forma a que a reacção ocorresse mais rapidamente e em maior extensão. Deixou-se a solução arrefecer durante 5 minutos.

Após o arrefecimento, observou-se a formação de duas fases. A fase com os ésteres metilados de ácidos gordos (EMAG), foi separada para um recipiente diferente, sendo adicionados 2 mL de éter de petróleo (98%) à restante solução.

A solução obtida foi misturada no vórtex durante 15 segundos, deixando-se repousar por uns instantes, até existir uma boa separação das duas fases que se voltaram a formar. A fase com os EMAG foi novamente separada e a solução restante foi sujeita ao mesmo procedimento mais duas vezes.

A solução contendo os EMAG foi filtrada com sulfato de sódio anidro o solvente foi eliminado no evaporador rotativo e o resíduo foi suspenso em 2 mL de éter de petróleo.

## **2.8. Determinação do perfil de ácidos gordos do óleo de semente**

O perfil de ácidos gordos presentes no óleo de sementes do figo-da-Índia foi determinado após a transesterificação do ácidos gordos, pelo processo referido anteriormente. Os EMAG foram separados e identificados num cromatógrafo gasoso Focus GC, da Thermo Quest, equipado com um espectrómetro de massa Polaris Q, também da Thermo Quest e um injector automático AS2000.

As condições de operação foram: velocidade fluxo do gás de arraste, neste caso azoto, foi de 1,0 ml/min e o fluxo de repartição foi de 30 ml/min. Foi injectado 1 µL de amostra, numa coluna HP-5MS, da J&W Scientific, com as dimensões 30 m x 0,32 mm x 0,25 µm. As temperaturas do injector e da interface foram de 270°C.

A temperatura inicial da coluna foi de 40°C, mantida durante dois minutos. Após este período, a temperatura foi elevada, à taxa de 10°C/min até atingir os 140°C. Após atingir esta temperatura, efectuou-se um aquecimento até 280°C à velocidade de 5°C/min, mantendo-se esta temperatura durante 15 minutos. Todas as injeções foram efectuadas em duplicado.

Os tempos de retenção das amostras, foram comparados com os de uma mistura padrão de ésteres metílicos de ácidos gordos (Supelco-47885-U), que foram analisados na mesma coluna, sob as mesmas condições, de forma a facilitar a identificação. Foi utilizado o software Xcalibur, para a análise dos espectros, bem como a sua biblioteca, como ajuda na identificação de picos, não presentes na mistura padrão.

## **2.9. Extracção de compostos fenólicos a partir do resíduo de extração do óleo**

Para efectuar a determinação das quantidades de compostos fenólicos totais, procedeu-se à sua extracção a partir dos resíduos das sementes, após ter sido efectuada a extração do óleo de semente, tanto no caso da extração a frio como na extração a quente (Soxhlet).

Desta forma, o resíduo das sementes foi colocado num balão de Erlenmeyer, no qual foram adicionados 100 mL de acetato de etilo. O Erlenmeyer foi selado, colocado num local ao abrigo da luz à temperatura ambiente, onde permaneceu durante 48 horas.

Após este período de extração, o conteúdo do balão de Erlenmeyer foi filtrado com sulfato de sódio anidro e a solução resultante foi colocada num balão de fundo redondo e o solvente foi eliminado num evaporador rotativo sob pressão reduzida.

A solução obtida após a extração, foi suspensa em 5 mL de acetato de etilo e armazenada ao abrigo da luz, a temperaturas de -20°C (Sim, Sri Nurestri & Norhanom, 2010).

## **2.10. Determinação da actividade antioxidante dos extractos dos resíduos de semente**

A actividade antioxidante dos resíduos das sementes do fruto de *Opuntia*, foi determinada através de três métodos diferentes, que serão descritos de seguida.

### **2.10.1. Método de Folin Ciocalteu**

Esta determinação teve como base o método descrito por Roura e colaboradores (Roura *et al.*, 1999).

Resumidamente, utilizaram-se 0,5 mL de amostra, provenientes da extração de compostos fenólicos dos resíduos de semente referida anteriormente, previamente diluída (1:10), e aos quais foram adicionados 2,5 mL de reagente Folin, 2 mL de solução de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 8% e a mistura reaccional foi incubada a 45°C durante dez minutos.

Foram utilizadas soluções padrão de ácido gálico (AGAL) para efectuar a reta de calibração. O intervalo de concentrações utilizadas foi de 10 mg/L a 100 mg/L.

Os resultados foram expressos, como médias de triplicados, em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg AGAL/g).

As absorvâncias das amostras e das soluções padrão, foram medidas a 765nm num espectrómetro de UV-VIS (Modelo Spekol 1500, Analytic Jena).

### **2.10.2. Método de DPPH**

O método utilizado foi baseou-se no método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995).

Preparou-se uma solução de DPPH em metanol, com uma concentração de 50 mg/L. A 2,5 mL desta solução, adicionaram-se 0,05 mL de amostra previamente diluída em água destilada (diluição de 1:20).

Após um período de incubação de 30 minutos no escuro, procedeu-se à leitura da absorvância da solução, num espectrofotómetro, a um comprimento de onda de 517 nm

Para a construção da recta de calibração, realizou-se o ensaio da mesma forma, substituindo a amostra por concentrações diferentes de ácido gálico, variando entre 10 mg/L e 40 mg/L.

A actividade antiradicalar das amostras relativamente ao DPPH foi expressa em equivalentes de ácido gálico.

### **2.10.3. Método FRAP**

O método de determinação do poder antioxidante de redução férrica (FRAP) foi adaptado do método descrito por Benzie & Strain (1996).

O reagente para o teste do poder redutor férrico (FRAP) foi preparado da seguinte forma: para um volume final de 120 mL de reagente, misturaram-se imediatamente antes de proceder aos ensaios 10 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico (20 mM), 10 mL de uma solução de 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) de 10 mM em HCl (11 M) e 100 mL de tampão acetato (0,3 M) a pH 3,6.

Para cada ensaio, utilizou-se 3 mL de reagente FRAP ao qual se adicionou 0,1 mL de amostra previamente diluída, com um factor de diluição de 1:20, em água destilada.

A mistura reaccional ficou a incubar em banho de água, a uma temperatura de 37°C durante 15 minutos. No final do período de incubação, procedeu-se à leitura da absorvância a um comprimento de onda de 593 nm.

Realizou-se o mesmo procedimento para a construção das rectas de calibração, substituindo a amostra por concentrações diferentes de sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ ) variando entre 0,2 mM e 1,0 mM.

O poder de redução férrica das amostras foi expresso em equivalentes de sulfato ferroso.

### **2.11. Análise estatística**

Todos os dados representam a média dos três ensaios realizados para cada amostra. Foi efectuada uma análise de variância, através do software – SPSS e com um grau de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## **CAPÍTULO 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**



Neste capítulo, apresentam-se os resultados referente à caracterização física efectuada às três espécies de figo-da-Índia analisadas, seguida da caracterização físico-química das suas sementes.

### 3.1. Caracterização fisiológica do figo-da-Índia

Numa fase inicial do trabalho, pretendeu-se identificar quais as espécies e variedades de *Opuntia* que estavam em estudo, uma vez que a entidade responsável pelas culturas de *Opuntia*, de onde foram retiradas estas amostras, não tinha a confirmação da sua identificação.

Muito embora não existisse esta confirmação, as indicações recolhidas, apontavam no sentido de dois dos frutos, serem provenientes de *Opuntia ficus-indica*, sendo o terceiro de origem desconhecida, apenas nascia espontaneamente nos valados.

O facto do género *Opuntia* encerrar cerca de 300 espécies diferentes, obriga a que a sua identificação, não passe apenas pelo tamanho, forma e cor do fruto, mas também pela forma e tamanho dos cladódios, da planta e pela presença ou ausência de espinhos, quer no fruto como nos cladódios (Feugang *et al.*, 2006; Anderson, 2001).

Para obter uma melhor caracterização e facilitar a correcta identificação das 3 espécies analisadas, procedeu-se à medição das dimensões dos frutos, das proporções de pele, polpa, sementes e mucilagem e por fim, das análises visual e descritiva das plantas, cladódios e frutos.

#### 3.1.1. Dimensões

Na Tabela 10, estão apresentados os resultados obtidos, referentes às dimensões das três amostras analisadas.

**Tabela 10 – Dimensões das 3 amostras de figo-da-Índia analisadas**

	ALTURA (cm)	LARGURA (cm)	PESO (g)
<i>Opuntia ficus-indica</i> Verde	8,0 ± 0,34 <sup>c</sup>	3,9 ± 0,37 <sup>b</sup>	70,8 ± 0,37 <sup>c</sup>
<i>Opuntia ficus-indica</i> Laranja	6,4 ± 0,40 <sup>b</sup>	4,0 ± 0,34 <sup>b</sup>	62,0 ± 0,26 <sup>b</sup>
<i>Opuntia dillenii</i>	5,3 ± 0,56 <sup>a</sup>	2,9 ± 0,38 <sup>a</sup>	34,4 ± 0,37 <sup>a</sup>

Valores classificados com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferenças significativas (p<0,05)

As três variedades consideradas apresentam diferenças significativas, quanto à altura e peso (p<0.05), sendo o figo *Opuntia ficus-indica* (variedade verde) aquele que apresenta valores

significativamente superiores e a variedade *Opuntia dillenii* aquela que apresenta valores significativamente inferiores, nestes dois parâmetros; a variedade *Opuntia dillenii* é significativamente mais estreita que as outras duas.

Em relação à altura e largura, os figos analisados encontram-se dentro dos valores expectáveis, no entanto, para a largura apresentam valores iguais ao limite inferior, encontrado na literatura, deste parâmetro (Alves *et al.*, 2008; Kabas *et al.*, 2006; Sáenz *et al.*, 2006).

Analisando os pesos obtidos, verifica-se um défice a rondar os 30g, para a variedade verde, e de 38g, para a variedade laranja, quando comparados com o valor mínimo encontrado na referências bibliográficas (Alves *et al.*, 2008; Kabas *et al.*, 2006; Sáenz *et al.*, 2006).

As justificações para este facto prendem-se com o facto das amostras analisadas terem valores de largura mínimos, sem existir a devida compensação em altura, uma vez que os valores apresentados, encontravam-se numa posição média, no intervalo de valores utilizados como comparação.

Aliado a estes facto, existem sempre variações das suas propriedades, que são explicadas por diversos factores, como o seu estado de maturação, condições climáticas e com o tipo de solo de cultivo (Coskuner & Tekin, 2003; Bensadón *et al.*, 2010).

Em particular o teor de água pode variar muito durante as várias épocas e locais de produção e este factor pode fazer variar muito significativamente o peso e dimensões dos frutos.

### 3.1.2. Proporções

A tabela 11, contém as percentagens relativas, dos diversos constituintes das frutos de *Opuntia* estudados.

**Tabela 11 – Percentagens relativas dos constituintes de *Opuntia*.**

	<i>OPUNTIA FICUS-INDICA</i> VERDE	<i>OPUNTIA FICUS-INDICA</i> LARANJA	<i>OPUNTIA DILLENII</i>
<b>Pele (%)</b>	8,8 ± 0,21 <sup>a</sup>	9,8 ± 0,23 <sup>b</sup>	11,5 ± 0,59 <sup>c</sup>
<b>Polpa (%)</b>	50,9 ± 0,29 <sup>c</sup>	45,9 ± 0,48 <sup>b</sup>	27,1 ± 0,61 <sup>a</sup>
<b>Sementes (%)</b>	6,2 ± 0,22 <sup>a</sup>	6,9 ± 0,32 <sup>a</sup>	9,6 ± 1,39 <sup>b</sup>
<b>Mucilagem (%)</b>	34,1 ± 0,26 <sup>a</sup>	37,4 ± 0,33 <sup>b</sup>	55,3 ± 1,33 <sup>c</sup>

Valores classificados com letras diferentes na mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05)

As três variedades consideradas apresentam diferenças significativas, quanto à pele, polpa e mucilagem (p< 0.05).

Em relação às percentagens de pele e mucilagem, a variedade *Opuntia dillenii* apresenta valores significativamente superiores, em comparação às outras duas variedades. A *Opuntia ficus-indica* (variedade verde) é a que apresenta valores significativamente inferiores, nestes dois parâmetros.

No que se refere à polpa, os dados são o oposto dos referidos para a pele e mucilagem, uma vez que é a *Opuntia ficus-indica* (variedade verde) que revela valores significativamente superiores, quando comparada com as outras variedades, enquanto que a *Opuntia dillenii* é aquela que tem menos percentagem de polpa.

Analisando os resultados obtidos para as percentagens de sementes, pode verificar-se que os valores de *Opuntia dillenii* são significativamente superiores, comparando com as variedades de *Opuntia ficus-indica*. Entre estas duas variedades, não existiram diferenças significativas, no que toca a este ponto.

A tabela 12, estão representados os valores obtidos experimentalmente, para a polpa e sementes, de forma a poder comparar com os valores encontrados na bibliografia.

**Tabela 12 – Percentagens de polpa e sementes presentes nos frutos de *Opuntia*.**

	<i>OPUNTIA FICUS-INDICA</i> VERDE		<i>OPUNTIA FICUS-INDICA</i> LARANJA		<i>OPUNTIA DILLENII</i>	
	Medina <i>et al.</i> , 2007	Este Trabalho	Medina <i>et al.</i> , 2007	Este Trabalho	Medina <i>et al.</i> , 2007	Este Trabalho
<b>Polpa</b>	45,3	50,86 ± 0,29	48,5	45,86 ± 0,48	58,0	27,10 ± 0,61
<b>Sementes</b>	5,9	6,17 ± 0,22	5,1	6,91 ± 0,32	10,6	9,60 ± 1,39

A escassez de dados comparativos, levou a que porção edível do fruto, mencionada por Medina, Rodríguez e Romero (2007), fosse considerada como polpa. Este apontamento tem alguma relevância, na medida em que a mucilagem, é parte importante do fruto e a sua percentagem não foi considerada por parte destes autores.

Este facto, não ocorreu nos dados experimentais deste trabalho, uma vez que se procedeu à separação da mucilagem, sementes e polpa. Desta forma, a mucilagem poderá ter sido considerada nos valores da porção edível, levando a uma quantificação por excesso da polpa.

A análise comparativa destes dados com as referências bibliográficas, revela que os valores percentuais obtidos para a polpa dos frutos de *Opuntia ficus-indica* é idêntica ao valores de referência, facto que não ocorre para a *Opuntia dillenii*, uma vez que este apresenta cerca de metade do valor de polpa apresentado na bibliografia.

Esta diferença de valores, pode ser explicada pela assumpção feita, referente à porção edível, uma vez que o interior da *Opuntia dillenii*, não permite uma distinção fácil entre a polpa e a mucilagem, levando a que a porção edível considerada pelos autores, tenha sido, muito provavelmente, uma

mescla entre polpa e mucilagem. Esta situação já não ocorreu para a *Opuntia ficus-indica*, pois essa diferenciação é muito mais evidente (Fig. 19)

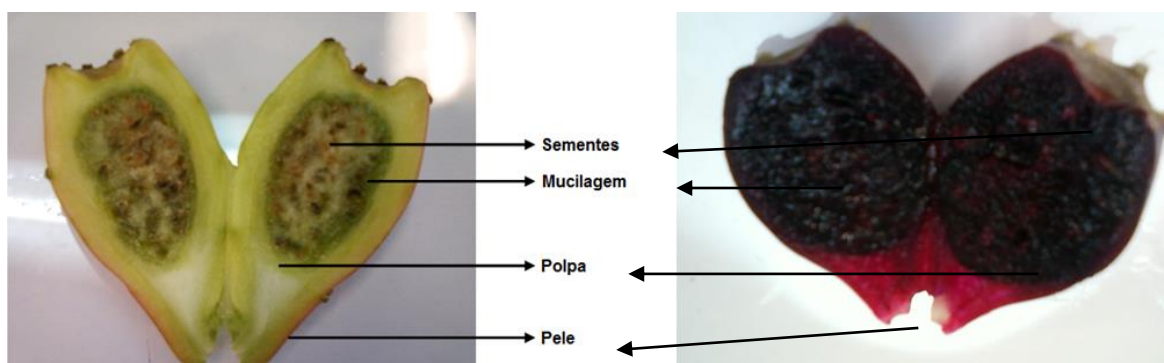


Figura 19 – Interior dos frutos de Opuntia.

As percentagens de sementes das duas variedades de *Opuntia ficus-indica*, foram ligeiramente superiores aos referidos na bibliografia. O inverso verificou-se para os figos de *Opuntia dillenii*, que apresentaram um valor percentual inferior, quando comparado com a literatura.

### 3.1.3. Análise visual das plantas, cladódios e frutos

A análise comparativa efectuada, entre as referências bibliográficas e os cultivos em análise, focou-se essencialmente em três componentes da planta, os cladódios, espinhos e frutos.

Em relação aos cladódios, foi analisada a sua distribuição e forma. No que se refere aos espinhos presentes nos cladódios, foi verificada a sua existência e disposição. A análise dos frutos baseou-se na cor, forma e presença de espinhos.

Dos três figos analisados, dois deles tinham uma morfologia muito similar entre si, existindo apenas uma distinção, feita através da sua cor, apresentando-se em laranja e em verde. As plantas originárias destes frutos, tinham características semelhantes.

Deste modo, foi possível agregar estas duas amostras na mesma espécie, existindo apenas uma diferença na sua variedade.

Após alguma pesquisa bibliográfica e indicações prévias por parte do produtor do fruto, a espécie que apresentou mais semelhanças com estas duas amostras, foi a *Opuntia ficus-indica*. Devido a esse motivo, esta foi a espécie que serviu como base de comparação.

Na Figura 20, é possível observar que tanto a distribuição, como a forma dos cladódios em estudo, são muito semelhantes, aos exemplos encontrados na literatura.



Figura 20 – Comparação da distribuição e forma dos cladódios, de *Opuntia ficus-indica*, apresentados

Existe uma distribuição quase aleatória das palmas em ambos os casos, formando uma camada densa de palmas, muito característica deste género de plantas. A sua forma é também semelhante, tendo as palmas uma forma de raquete, com os frutos a brotarem na zona superior do cladódio.

Referente à presença de espinhos, na Figura 21, é possível verificar a presença de pequenos espinhos com o mesmo género de distribuição, em ambos os casos.



Figura 21 – Comparação da presença e disposição dos espinhos presentes nos cladódios

A comparação do figo de *Opuntia ficus-indica* (Figura 22), possibilita efectuar a confirmação da identificação correcta das variedades em estudo.





Figura 22 – Comparação dos frutos de *Opuntia ficus-indica*, apresentados na literatura (no topo), com os utilizados neste trabalho, em baixo à esquerda a variedade verde

A análise comparativa dos figos, possibilitou a identificação destas duas amostras analisadas, uma vez os figos usados como referência e as amostras em estudo, não revelaram diferenças no que se refere à sua forma, tamanho, cor, presença e distribuição dos espinhos.

Desta forma, após a análise efectuada, considerou-se que estas amostras correspondiam a duas variedades de *Opuntia ficus-indica*.

Em relação ao terceiro figo analisado, muito embora não existisse grande informação sobre o mesmo, o facto deste surgir espontaneamente nos terrenos, foi um óptimo ponto de partida na pesquisa de bibliográfica, visto que apenas a *Opuntia dillenii* se encontra naturalizada no território português (Marchante, 2005).

Na Figura 23, é possível observar a distribuição e a forma dos cladódios em estudo e os exemplos encontrados na literatura.



Figura 23 – Comparação da distribuição e forma dos cladódios, de *Opuntia dillenii*, apresentados na literatura, à esquerda, em relação aos utilizados neste trabalho (USDA, 2009).

Comparando as imagens, é perceptível a semelhança entre o exemplo bibliográfico e objecto de estudo. As palmas são ligeiramente mais pequenas, quando comparadas com as presente na *Opuntia ficus-indica*, mas a sua distribuição é igualmente aleatória e muito densa. Os frutos brotam da zona superior dos cladódios.

A Figura 24 possibilita a comparação da presença e distribuição de espinhos, entre os exemplos encontrados na literatura e aqueles que estão em estudo.

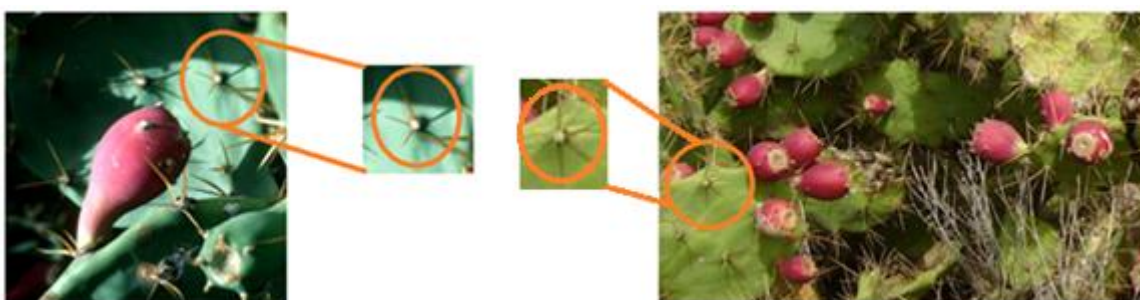


Figura 24 – Comparação da presença e disposição dos espinhos presentes nos cladódios, de *Opuntia dillenii*, apresentados na literatura, à esquerda, em relação aos utilizados neste trabalho (USDA, 2009).

É possível verificar a presença de espinhos de grandes dimensões nas palmas, com o mesmo género de distribuição.

A comparação do fruto, permitiu retirar as dúvidas referentes à identificação da terceira variedade de figo-da-Índia analisada. Na Figura 25, apresenta-se uma imagem encontrada na literatura, referente a *Opuntia dillenii*, e também uma imagem dos figos analisados.



Figura 25 – Comparação do fruto de *Opuntia dillenii*, apresentado na literatura, à esquerda, em relação aos utilizados neste trabalho (USDA, 2009).

O fruto apresentou uma coloração roxa em ambos os casos. Tem uma forma de baga, com dimensões mais reduzidas que as encontradas na *Opuntia ficus-indica*. Ambos os casos apresentam espinhos na pele do fruto, com uma distribuição muito similar entre si.

Perante estas características, foi considerado que a identificação correcta deste figo corresponderia a *Opuntia dillenii*.

### 3.2. Caracterização da semente do figo-da-Índia

Os principais motivos de interesse nos estudos efectuados sobre as sementes do figo, tem sido na sua grande maioria, o seu óleo e os seus compostos bioactivos.

Neste trabalho prático, o estudo foi um pouco mais alargado, uma vez que além de se explorar os métodos de extração do óleo, analisar a sua qualidade e a actividade antioxidante das sementes, foi igualmente traçado um perfil nutricional das sementes.

Esta componente deste estudo visa avaliar as possibilidade de valorização das sementes como componentes de rações animais que antes quer após a extracção do óleo.

#### 3.2.1. Dados nutricionais



Na tabela 13, estão apresentados os resultados obtidos para os vários componentes nutricionais, determinados para as três amostras de *Opuntia*.

**Tabela 13 - Perfil nutricional das três amostras de figo-da-Índia analisadas.**

Figo	PROTEÍNA BRUTA (%)	GORDURA BRUTA (%)	HUMIDADE (%)	CINZA (%)	HIDRATOS DE CARBONO (%)	FIBRA BRUTA (%)
<i>Opuntia ficus-indica</i>	11,8 ± 0,27 <sup>b</sup>	13,2 ± 0,20 <sup>b</sup>	6,7 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,0 ± 0,03 <sup>a</sup>	65,3 ± 0,07 <sup>b</sup>	58,2 ± 0,44 <sup>a</sup>
<i>Opuntia ficus-indica</i>	14,3 ± 0,23 <sup>c</sup>	12,7 ± 0,14 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,03 <sup>b</sup>	3,2 ± 0,03 <sup>b</sup>	63,6 ± 0,09 <sup>a</sup>	57,5 ± 0,46 <sup>a</sup>
<i>Opuntia dillenii</i>	10,7 ± 0,31 <sup>a</sup>	12,4 ± 0,15 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,03 <sup>c</sup>	3,2 ± 0,03 <sup>b</sup>	65,9 ± 0,35 <sup>b</sup>	59,3 ± 0,37 <sup>b</sup>

Valores classificados com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

No que se refere às percentagens de proteína bruta, as três variedades consideradas apresentam diferenças significativas entre si ( $p < 0,05$ ), sendo a *Opuntia dillenii* a variedade que apresenta valores significativamente inferiores, ao invés da OFI laranja, que é significativamente a amostra com mais proteína.

Para os teores em humidade, existem igualmente diferenças significativas entre cada amostra, mas neste caso, é a OFI verde a que apresenta valores significativamente inferiores e a *Opuntia dillenii* valores significativamente superiores.

Em relação à gordura bruta, as amostras de *Opuntia dillenii* e OFI laranja, revelaram diferenças significativas em relação à *Opuntia ficus-indica* (variedade verde). Esta última apresentou valores de gordura bruta, significativamente superiores às outras duas amostras.

As percentagens de cinza presentes nas amostras, apresentam diferenças significativas análogas à gordura bruta, contudo é a OFI verde que contém valores de cinza significativamente inferiores às outras amostras.

No que diz respeito aos teores de fibra bruta, as amostras de OFI, apresentaram diferenças significativas comparadas com a *Opuntia dillenii*. Ambas apresentaram valores significativamente inferiores, aos revelados pela *Opuntia dillenii*.

Por última, referente aos valores de hidratos de carbono, a OFI laranja apresentou valores significativamente inferiores, em comparação com a OFI verde e *Opuntia dillenii*, que não revelaram diferenças significativas entre si.

Como mencionado anteriormente, não existem muitos estudos cujo objecto de estudo seja o perfil nutricional das sementes, mas os três estudos apresentados na introdução (tabela 7), permitem algum enquadramento dos resultados obtidos experimentalmente, referentes apenas à *Opuntia*

ficus-indica, uma vez que em relação à *Opuntia dillenii* não foram encontrados dados passíveis de comparação.

Na Tabela 14 estão apresentados os perfis nutricionais das duas variedades de OFI analisadas *versus* os perfis presentes na literatura.

**Tabela 14 – Perfis nutricionais das sementes de OFI, utilizados como referência e determinados experimentalmente neste trabalho.**

PARÂMETRO	LITERATURA	OPUNTIA FICUS-INDICA VERDE	OPUNTIA FICUS-INDICA LARANJA	VALOR DIÁRIO DE REFERÊNCIA (%VDR) POR FRUTO	
				OFI VERDE	OFI LARANJA
Humidade(%)	5,3 - 7,0	6,7	7,3	Não aplicável	
Cinzas (%)	1,1 - 5,9	3,0	3,2	Não aplicável	
Proteínas (%)	5,4 -16,6	11,8	14,3	1,5	2,0
Lípidos (%)	6,77 - 17,2	13,2	12,7	1,6	1,8
Hidratos de Carbono (%)	-	65,3	63,6	8,1	8,8
Fibras (%)	49,6 - 54,2	58,2	57,5	7,2	7,9

Fontes: Sawaya *et al.*, 1983; El Kossori *et al.*, 1998; Ennouri *et al.*, 2005; FIPA, 2013.

Os valores descritos na tabela 14, revelam que o perfil nutricional das sementes obtido experimentalmente, está enquadrado nos valores apresentados nas referências bibliográficas.

Os valores de fibra, são os únicos em que ambas as variedades, não se encontram dentro do intervalo considerado na literatura, apresentado valores ligeiramente superiores. Em relação à humidade, apenas a variedade laranja apresenta um valor percentual ligeiramente superior ao esperado.

Não foi possível efectuar a comparação de resultados para a *Opuntia dillenii*, por falta de informação existente na bibliografia. Apenas é possível referir que, as percentagens de proteína e gordura, foram as mais baixas das três amostras analisadas, ao invés da fibra, humidade e cinzas, onde foram as sementes com valores mais elevados.

### 3.2.2. Extracção do óleo de semente a quente e a frio

Na tabela 15, estão descritos os rendimentos obtidos para os dois métodos considerados para efectuar a extração dos óleos de semente, com os diferentes solventes utilizados.

**Tabela 15 – Rendimentos das diversas extrações efectuadas às sementes de Opuntia.**

	MÉTODO A QUENTE – SOXHLET		MÉTODO A FRIO				
	ÉTER DE PETRÓLEO (%)	ACETONA (%)	ACETONA (%)	ETANOL (%)	METANOL (%)	CLOROFÓRMIO – METANOL (%)	ÉTER DE PETRÓLEO (%)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Verde)	13,2 ± 0,14 <sup>M</sup>	10,8 ± 0,11 <sup>J</sup>	6,5 ± 0,02 <sup>G</sup>	3,1 ± 0,07 <sup>C</sup>	4,2 ± 0,06 <sup>E</sup>	1,3 ± 0,03 <sup>A,B</sup>	3,6 ± 0,10 <sup>D</sup>
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Laranja)	12,7 ± 0,13 <sup>L</sup>	9,9 ± 0,10 <sup>I</sup>	6,6 ± 0,03 <sup>G</sup>	3,3 ± 0,06 <sup>C</sup>	3,2 ± 0,07 <sup>C</sup>	1,1 ± 0,03 <sup>A</sup>	3,3 ± 0,11 <sup>C</sup>
<i>Opuntia dillenii</i>	12,4 ± 0,20 <sup>L</sup>	11,7 ± 0,12 <sup>K</sup>	7,4 ± 0,07 <sup>H</sup>	5,2 ± 0,06 <sup>F</sup>	4,5 ± 0,05 <sup>E</sup>	1,4 ± 0,04 <sup>B</sup>	5,3 ± 0,08 <sup>F</sup>

Os dois métodos considerados, conjugados com os diferentes solventes, apresentam diferenças significativas, entre si ( $p < 0.05$ ).

Em relação aos dois métodos utilizados, a extração por Soxhlet apresenta valores significativamente superiores, em comparação com a extração a frio. Este comportamento seria expectável pois a uma temperatura mais elevada os processos de penetração do solvente na matriz e a própria solubilização do óleo são facilitados. No entanto pretendemos mais tarde avaliar se este óleo extraído com aquecimento apresenta as mesmas propriedades que o óleo extraído a frio.

A mistura clorofórmio-metanol (1:1), revela percentagens significativamente inferiores, em comparação com todos os solventes utilizados, em ambos os métodos. Na extração a quente feita com o éter de petróleo, os valores obtidos são significativamente superiores a qualquer outro solvente, nos dois métodos considerados.

Analisando os resultados no seu cômputo geral e co-relacionando-os, com a variedade de figo, solvente e métodos utilizados, existe uma tendência para que o rendimento da extrações a frio, seja mais dependente da natureza do figo, do que do tipo de solvente, na medida em que para cada solvente parece existir, na maioria dos casos, uma ordem definida no valor percentagem do rendimento. Representando esse padrão por ordem crescente, seria:

$$Opuntia\ ficus-indica\ (laranja) < Opuntia\ ficus-indica\ (verde) < Opuntia\ dillenii$$

Esta ordem apenas não é respeitada, nas extrações com acetona e etanol, onde a variedade verde de *Opuntia ficus-indica*, apresenta um valor inferior que a variedade laranja, mas em ambos os casos pertencem ao mesmo grupo de significância..

Para facilitar a visualização desta ocorrência, na Tabela 16, estão apresentados os mesmos dados, mas com uma apresentação ligeiramente diferente, da efectuada anteriormente. Esta tabela foi obtida através do software SPSS, onde foi efectuado o tratamento estatístico dos dados, após efectuar o teste de Tukey.

**Tabela 16 - Rendimentos das extracções a frio, agrupados pelas suas diferenças significativas, segundo o teste de Tukey.**

$\alpha = 0,05$								
Código	a	b	c	d	e	f	g	h
Clorofórmio:Metanol / Frio /OFI laranja	1,078							
Clorofórmio:Metanol / Frio / OFI verde	1,250	1,250						
Clorofórmio:Metanol / Frio / OD		1,414						
Etanol / Frio / OFI verde			3,085					
Metanol / Frio / OFI laranja			3,220					
Éter de Petróleo / Frio / OFI laranja			3,246					
Etanol / Frio / OFI laranja			3,268					
Etanol / Frio / OFI verde				3,563				
Metanol / Frio / OFI verde					4,213			
Metanol / Frio / OD					4,450			
Etanol / Frio / OD						5,182		
Éter de Petróleo/ Frio / OD						5,278		
Acetona / Frio / OFI verde							6,526	
Acetona / Frio / OFI laranja							6,561	
Acetona / Frio / OD								7,434

Na extracção a frio a natureza do solvente, o teor de humidade do fruto e a presença de outros componentes do figo afecta de forma determinante a transferência do óleo (um componente essencialmente apolar), da matriz para o solvente de extracção.

Como o óleo poderia ser degradado por processos de secagem da semente estes não foram realizados pelo que a semente possuía ainda a sua água de vegetação natural. A presença de água representa uma barreira à penetração de solventes hidrofóbicos na matriz e pode reduzir drasticamente a eficiência de extracção do óleo.

A presença de compostos proteicos ou de pectinas pode promover a formação de géis ou emulsões que também dificultam o processo de dissolução do óleo; tanto a acetona como os álcoois têm a capacidade de quebrar essas emulsões e provocar a precipitação de proteínas e são também miscíveis com água pelo que não sofrem impedimentos de acesso à matriz que podem ocorrer para os solventes mais apolares.

No entanto, sendo o óleo um componente apolar, a sua solubilidade será maior em solventes menos polares pelo que os álcoois sobretudo o metanol.

Assim não é de estranhar que o solvente com melhor eficiência de extracção a frio seja a acetona que congrega a miscibilidade com a água e uma carácter suficientemente apolar para efectuar uma dissolução eficiente do óleo.

Nas extracções a quente, ocorre precisamente o oposto, o rendimento das extracções vai variar sobretudo com a natureza do solvente e não da natureza do figo ou a presença de água pois tratando-se de uma extracção sólido-líquido contínua à uma temperatura superior À temperatura ambiente, não se verificam tantas restrições à difusão do óleo para o solvente e a presença de água só afecta as extracções iniciais (ciclos iniciais da extracção Soxhlet), sendo a água progressivamente removida da matriz e atingindo-se portanto elevados rendimentos globais de remoção do óleo para qualquer das sementes testadas.

Este comportamento pode observar-se na Tabela 17, onde se apresentam os resultados das comparações múltiplas das médias dos rendimentos de extracção efectuadas através do teste de Tukey.

Através da análise dos dados da Tabela 17, verifica-se que as três extracções de acetona tiveram valores inferiores, em comparação com as de éter de petróleo, apresentando diferenças significativas entre os rendimentos dos solventes, para este método.

**Tabela 17 – Rendimentos das extracções a quente, agrupados pelas suas diferenças significativas, segundo o teste de Tukey**

$\alpha = 0,05$					
Código	i	j	k	l	m
Acetona / Quente / OFI laranja	9,932				
Acetona / Quente / OFI verde		10,802			
Acetona / Quente / OD			11,713		
Éter / Quente / OD				12,429	
Éter / Quente / OFI laranja				12,698	
Éter / Quente / OFI verde					13,188

Após a análise estatística dos resultados, foi efectuada a comparação dos rendimentos obtidos nos método a quente, com as referências bibliográficas, exposta na Tabela 18.

**Tabela 18 – Rendimentos das extrações a quente, comparados com a literatura.**

	ÉTER DE PETRÓLEO (%)	ACETONA (%)	LITERATURA
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Verde)	13,19 ± 0,14	10,80 ± 0,11	6,77 - 17,2
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Laranja)	12,70 ± 0,13	9,93 ± 0,10	
<i>Opuntia dillenii</i>	12,43 ± 0,20	11,71 ± 0,12	-

Ambos os solventes registaram percentagens de rendimento, enquadradas no intervalo encontrado na literatura, para a *Opuntia ficus-indica*.

Embora não tenham sido encontradas referências bibliográficas, valores para a *Opuntia dillenii*, estes foram apresentados na tabela, para mostrar que não foram muito diferentes, dos obtidos para *Opuntia ficus-indica*.

### 3.2.3. Composição de ácidos gordos

A fração lipídica de sementes de figo, apresentou como principais constituintes: o ácido palmítico (C16:0), com uma gama de valores a variar entre os 3,63 a 12,21%; o ácido esteárico (C18:0), variando as suas concentrações entre 1,80 a 4,87; o ácido oleico (C18:1), o composto identificado em maiores quantidades, que oscilaram entre 20,75 e 60,65; por fim, o ácido linoleico (C18:2), cuja concentração se situou no intervalo entre 1,24 e 11,76%.

A Tabela 19, mostra o conteúdo de ácidos gordos dos três óleos das sementes de figo-da-Índia, extraídos no presente trabalho, pelos diferentes métodos e utilizando os solventes acetona e éter de petróleo, para os quais se obtiveram os maiores rendimentos de extração do óleo de semente, a quente e a frio.

Além do ácido oleico, o componente principal destes óleos é de realçar a presença de uma quantidade substancial de outros ácidos gordos monoinsaturados como o ácido palmitoleico (C16:1), o ácido heptadecenoico (C17:1), o ácido eicosenóico (C20:1), o ácido dodecosenóico (C22:1) e o ácido tetracosenóico (C24:1), presentes em quantidades superiores às que se encontram vulgarmente em óleos vegetais provenientes de culturas oleaginosas como o girassol ou a soja.

Observa-se também a presença de ácidos poliinsaturados em particular o ácido linoleico (C18:2) que chegou a atingir concentrações relativas superiores a 10%.

Deve referir-se no entanto que a quantificação deste ácido foi efectuada em termos semiquantitativos pois ele co-eluiu com o ácido oleico nas condições cromatográficas utilizadas pelo que a sua quantificação foi realizada por análise do espectro de massa e identificação do tempo de retenção a partir do qual o espectro do ácido oleico se sobrepunha ao espectro do ácido linoleico. Este procedimento tem sempre associada uma incerteza relativamente elevada pelo que

consideramos estas concentrações relativas como valores indicativos ao contrário das restantes determinadas em condições de separação cromatográfica ao nível da linha de base. Observa-se também a presença de ácidos gordos poliinsaturados, nomeadamente com duas ou três ligações duplas na sua molécula, que no seu conjunto contribuem para as propriedades funcionais destes óleos.

**Tabela 19 - Conteúdo de ácidos gordos (%), identificados no óleo de sementes de Opuntia.**

Composto	OFI Verde, Acetona; Frio	OFI Laranja, Acetona Frio	OD, Acetona Frio	OFI Verde, Acetona Quente	OFI Laranja, Acetona Quente	OD, Acetona Quente	OFI Verde, Éter de Petróleo Frio	OFI Laranja, Éter de Petróleo Frio	OD, Éter de Petróleo Frio	OFI Verde, Éter de Petróleo Quente	OFI Laranja, Éter de Petróleo Quente	OD, Éter de Petróleo Quente
<b>C14:0</b>	0,11	0,15	0,31	0,06	0,02	0,06	0,14	0,16	0,16	0,55	0,15	0,27
<b>C16:0</b>	9,57	11,45	6,73	3,89	3,63	6,92	11,97	12,21	12,10	7,09	8,86	8,50
<b>C16:1</b>	2,08	1,71	1,17	1,36	0,74	1,16	1,88	2,27	2,05	1,05	1,99	1,73
<b>C17:0</b>	0,10	0,07	0,46	0,10	0,13	0,09	0,08	0,09	0,08	0,09	0,13	0,12
<b>C17:1</b>	0,32	0,17	0,76	0,29	0,07	0,22	0,13	0,14	0,13	0,40	0,13	0,12
<b>C18:0</b>	5,00	4,57	2,95	1,88	1,80	3,31	6,20	4,87	4,84	2,74	4,37	3,03
<b>C18:1</b>	60,65	57,49	40,61	20,75	22,06	35,14	56,43	59,99	59,8	52,37	51,13	45,79
<b>C18:2</b>	3,29	11,76	1,24	5,70	3,34	7,82	6,17	6,56	7,85	1,31	5,94	4,38
<b>C20:0</b>	0,69	0,71	1,03	0,26	0,31	0,61	1,01	1,14	1,12	1,40	0,96	0,91
<b>C20:1</b>	1,07	1,07	2,20	0,69	0,63	0,87	1,44	1,65	1,60	0,81	1,46	1,51
<b>C20:2</b>	0,42	0,20	0,61	0,41	0,00	0,11	0,18	0,19	0,19	0,23	0,19	0,16
<b>C21:0</b>	0,29	0,10	0,48	0,28	0,40	0,33	0,17	0,13	0,10	0,11	0,08	0,06
<b>C21:3</b>	0,08	0,05	0,32	0,86	0,26	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>C22:0</b>	0,03	0,56	0,65	0,13	0,25	0,62	0,82	1,02	0,99	0,85	0,82	0,73
<b>C22:1</b>	0,79	0,68	1,32	0,77	0,36	0,75	0,96	1,09	1,04	0,91	0,89	1,04
<b>C23:0</b>	0,09	0,07	0,14	0,25	0,05	0,12	0,13	0,14	0,14	0,17	0,13	0,67
<b>C23:3</b>	0,00	0,00	0,00	0,65	0,16	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>C24:0</b>	0,29	0,23	0,26	0,16	0,12	0,35	0,37	0,48	0,40	0,71	0,50	0,53
<b>C24:1</b>	0,44	0,11	0,80	0,30	0,55	0,26	0,29	0,28	0,25	0,26	0,49	0,30
<b>C24:2</b>	0,34	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,46	0,00	0,26
<b>C26:0</b>	0,17	0,14	0,34	0,02	0,27	0,24	0,17	0,15	0,12	0,50	0,21	0,41
<b>Esteróis</b>	1,19	0,51	3,12	1,14	1,71	1,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00



Nas Figura 26 e 27, são apresentados os gráficos com os teores de ácidos gordos individuais, detectados no óleo de semente do figo-da-Índia, que foi obtido por extracção Soxhlet.

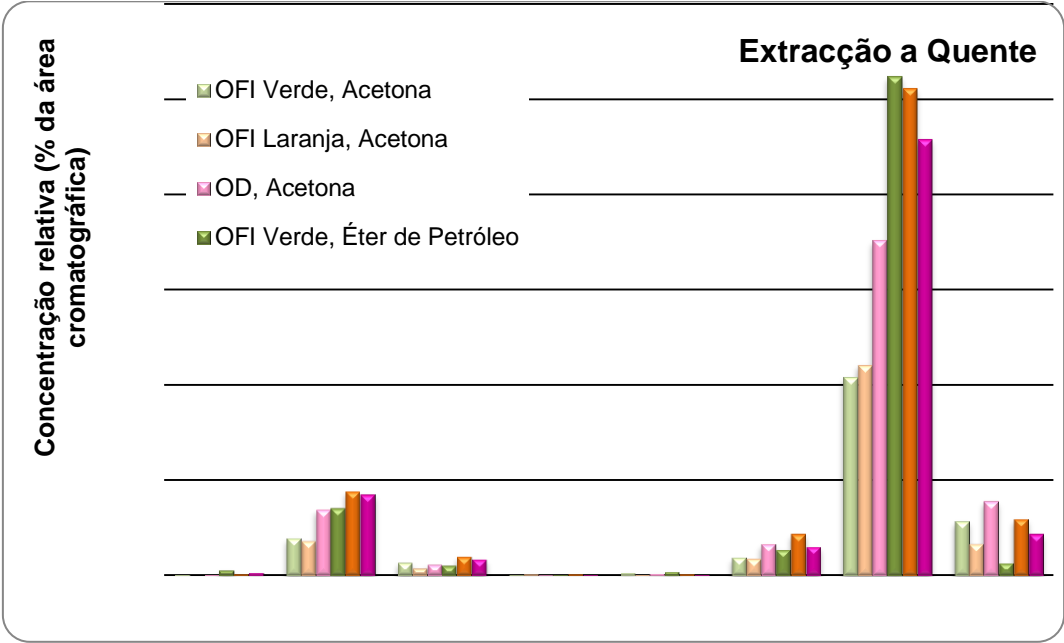


Figura 26 – Concentrações relativas dos ácidos gordos (C14:0 a C18:2), nas extracções efectuadas a quente.

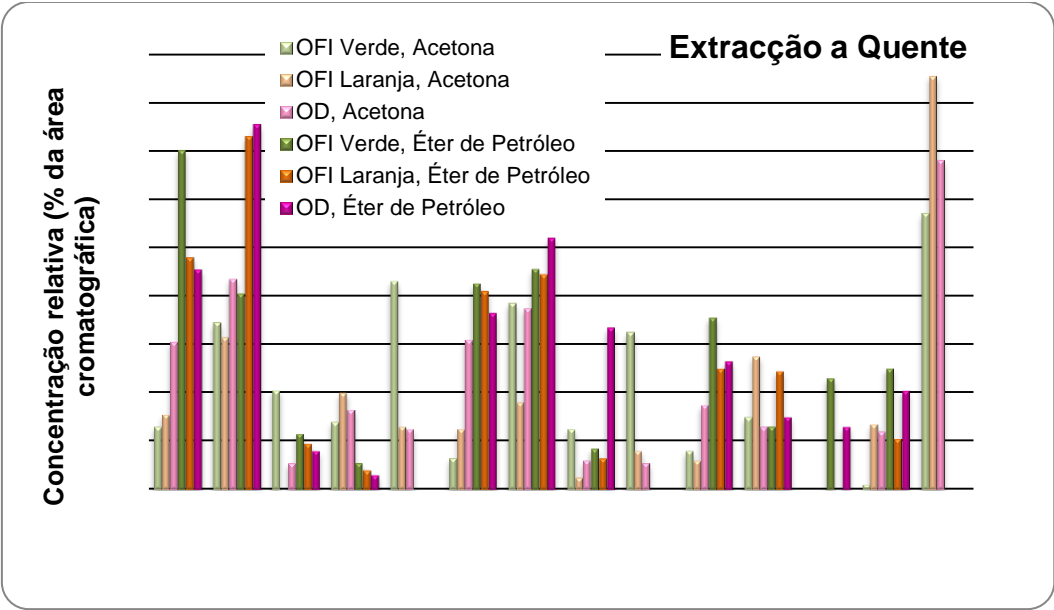


Figura 27 – Concentrações relativas dos ácidos gordos (C20:0 a C26:0) e esteróis, nas extracções efectuadas a quente.

Na extracção a quente o éter de petróleo manifestou maior eficiência na dissolução dos componentes principais do óleo (o ácido oleico e o ácido palmítico) mas também de alguns componentes minoritários como foi o caso dos ácidos eicosanóico (C20:0), docosanóico (C22:0) e ácido nervónico (C24:0).

Por outro lado os extractos de acetona apresentaram concentrações relativas comparáveis ou mesmo superiores de alguns ácidos polinsaturados como é o caso do ácido linoleico (C18:2), o ácido heneicosatrienóico (C21:3), o ácido tricosatrienóico (C23:3) bem como de diversos álcoois esterólicos.

Esta diferente composição demonstra que o óleo extraído com acetona apesar de não atingir o rendimento mássico da extracção efectuada com hexano poderá apresentar maior quantidade de componentes com propriedades biológicas relevantes e portanto ser de maior interesse explorar este procedimento.

Por outro lado importa não esquecer que a acetona apresenta um ponto de ebulição inferior ao hexano pelo que não tem requisitos de temperatura tão exigentes na sua eliminação e não apresenta contaminações com compostos aromáticos que por vezes se encontram no hexano e que obrigam à sua purificação por destilação antes de poder ser utilizado na extracção do óleo.

A variedade do figo a que pertencem as sementes não pareceu ser determinante na concentração dos ácidos gordos individuais encontrando-se valores elevados de diferentes ácidos gordos, no óleo das diferentes sementes em função das condições de extracção. Por exemplo, o óleo da semente de *Opuntia dillenii*, apresentam o maior teor de ácido oleico na extracção a quente com acetona e o menor teor deste ácido na extracção a quente com éter de petróleo.

Quando as percentagens relativas de determinados ácidos gordos individuais são mais baixas isso significa que se observou um aumento nas concentrações relativas de outros ácidos gordos presentes na mesma amostra mas também pode reflectir um aumento em outros componentes co-extraídos, que estão presentes no cromatograma mas que não foram quantificados por não serem ácidos gordos. É o caso de hidrocarbonetos que surgiram em algumas amostras pois estão presentes na semente e são solúveis nos solventes utilizados na extracção dos lípidos.

Nas Figuras 28 e 29, são apresentados os gráficos com os teores de ácidos gordos individuais, detectados no óleo de semente do figo-da-Índia, que foi obtido por extracção a frio.

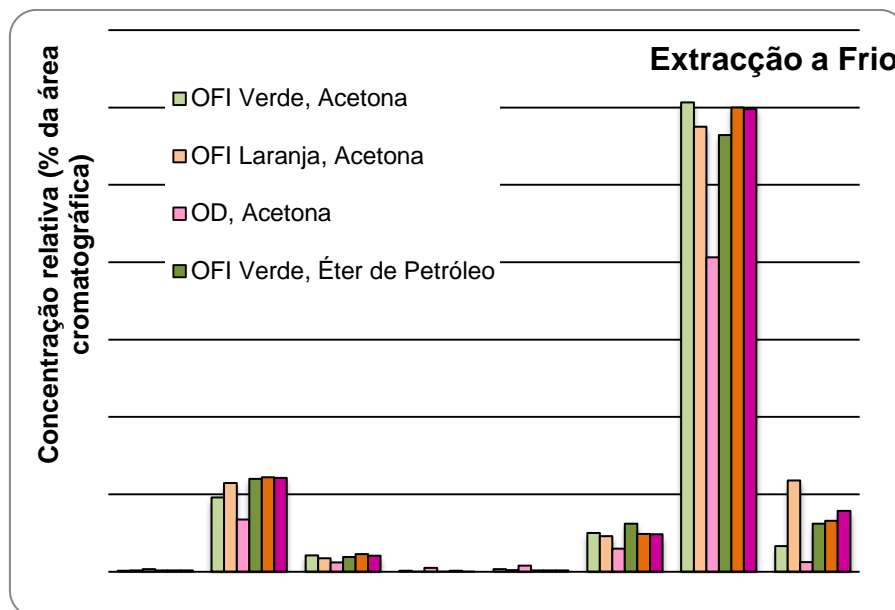


Figura 28 – Concentrações relativas dos ácidos gordos (C14:0 a C18:2), nas extracções efectuadas a frio.

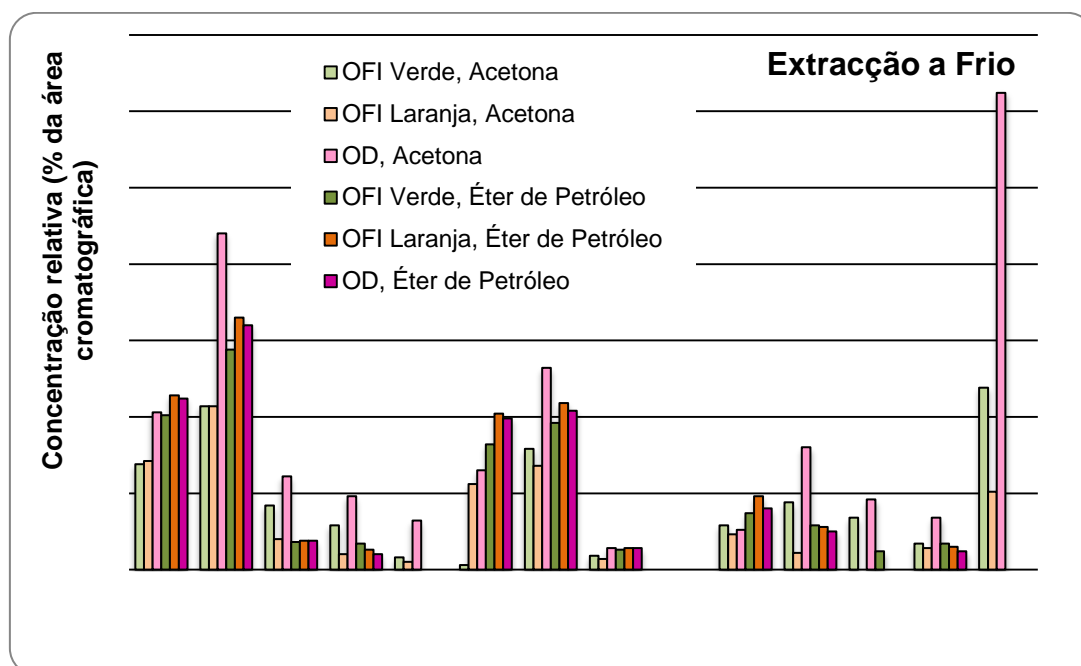


Figura 29 – Concentrações relativas dos ácidos gordos (C20:0 a C26:0) e esteróis, nas extracções efectuadas a frio.

Na extração a frio as diferenças entre os dois solventes são menos nítidas e o óleo apresentou maiores concentrações relativas de alguns ácidos gordos nomeadamente dos seus componentes principais o ácido oleico e o ácido palmítico.

Este resultado confirma a ideia de que ao maximizar o rendimento de extração (como ocorre na extração Soxhlet), nem sempre se obtém um óleo com a composição ideal pois pode apresentar menor teor de compostos lípidicos e maior teor de hidrocarbonetos e ceras que lhe conferem propriedades físico-químicas diferentes e nem sempre ideais.

Para comparar o efeito das diferentes condições de extração nas percentagens relativas dos diversos tipos de ácidos gordos efectuou-se o somatório das suas concentrações relativas para os grupos dos ácidos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados; avaliou-se também a concentração relativa de compostos esterólicos totais e a razão entre ácidos gordos saturados e insaturados (Tabela 20).

Na Tabela 20, estão os valores totais de ácidos gordos saturados, insaturados, nomeadamente monoinsaturados e poliinsaturados, e esteróis, para cada método e solvente utilizado. Nas Figuras 30 e 31, são apresentadas as representações gráficas correspondentes à tabela apresentada.

**Tabela 20 – Concentrações relativas (%) das principais classes de ácidos gordos presentes no óleo, dos álcoois esterólicos totais e razão entre compostos insaturados e saturados**

CÓDIGO	Ácidos gordos saturados	Ácidos gordos monoinsaturados	Ácidos gordos poliinsaturados	Esteróis Totais	Ácidos gordos insaturados / ácidos gordos saturados
OFI Verde, Acetona, Frio	16,34	65,35	4,13	1,19	4,25
OFI Laranja, Acetona, Frio	18,05	61,23	12,01	0,51	4,06
OD, Acetona, Frio	13,35	46,86	2,63	3,12	3,71
OFI Verde, Acetona, Quente	7,03	24,16	7,62	1,14	4,52
OFI Laranja, Acetona, Quente	6,98	24,41	3,76	1,71	4,04
OD, Acetona, Quente	12,65	38,40	8,29	1,36	3,69
OFI Verde, Éter de Petróleo, Frio	21,06	61,13	6,47	0,00	3,21
OFI Laranja, Éter de Petróleo, Frio	20,39	65,42	6,75	0,00	3,54
OD, Éter de Petróleo, Frio	20,05	64,87	8,04	0,00	3,64
OFI Verde, Éter de Petróleo, Quente	14,21	55,8	2,00	0,00	4,07
OFI Laranja, Éter de Petróleo, Quente	16,21	56,09	6,13	0,00	3,84
OD, Éter de Petróleo, Quente	15,23	50,49	4,8	0,00	3,63

Verifica-se que a razão entre compostos insaturados e saturados foi superior para as extracções com acetona, quer a quente quer a frio para as várias sementes estudadas.

Essa diferença deveu-se por um lado a uma menor extracção de ácidos gordos saturados quando comparada com éter de petróleo em condições equivalentes quer a uma maior extracção de compostos insaturados também em condições experimentais comparáveis.

Estes resultados apresentam-se nas Figuras 30 e 31 para facilitar a sua análise comparativa.

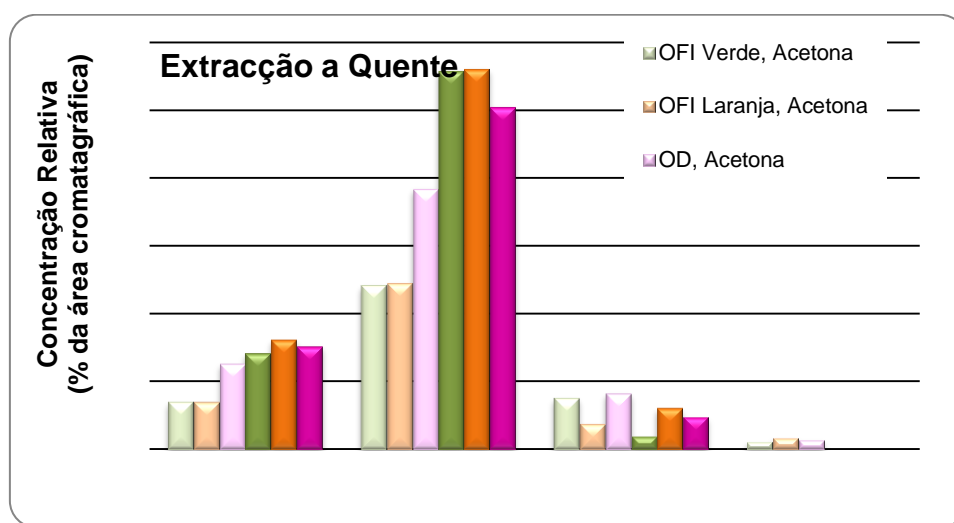


Figura 30 – Concentrações relativas dos ácidos gordos saturados, insaturados e esteróis, nas extracções efectuadas a quente.

Na extracção a quente (Fig. 29) o óleo obtido com éter de petróleo apresenta amior quantidade relativa de compostos lipídicos em particular ácidos gordos saturados e monoinsaturados. A acetona apresenta uma quantidade ligeiramente superior de ácidos gordos polinsaturados para as sementes de *Opuntia ficus-indica* (variedade verde) e para as sementes de *Opuntia dillenii*.

Por outro lado só os extractos de acetona apresentam concentrações não negligenciáveis de álcoois esterólicos cuja presença pode contribuir para a actividade funcional destes óleos.

Já na extracção a frio (Fig. 20) os óleos obtidos com acetona também apresentam quantidades relativamente elevadas de ácidos gordos monoinsaturados quando comparados com os óleos obtidos com éter de petróleo mas contêm menores quantidades relativas de ácidos gordos saturados o que se traduz num maior índice de insaturação.

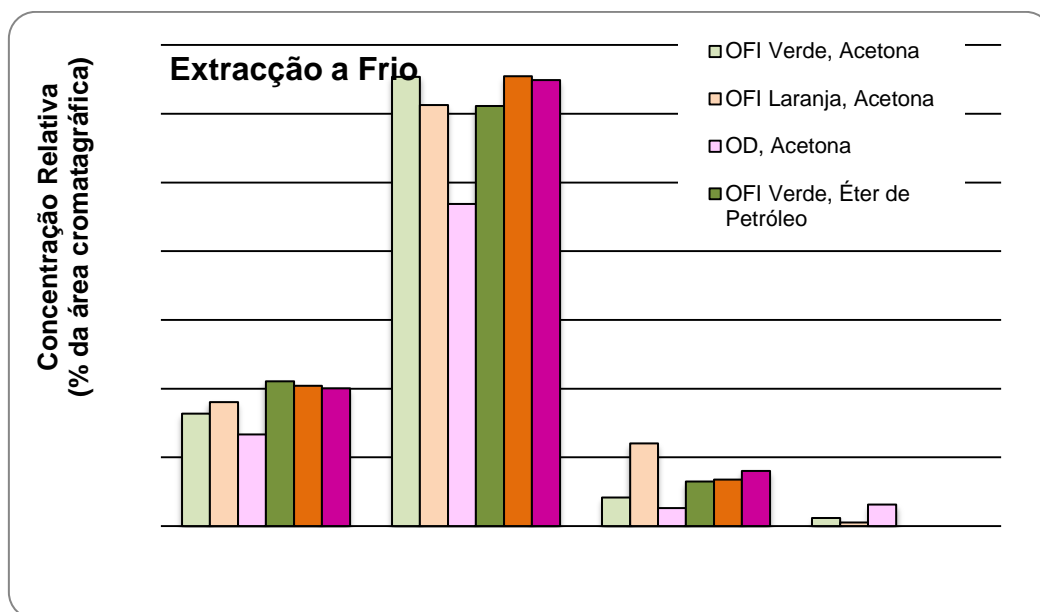


Figura 31 – Concentrações relativas dos ácidos gordos saturados, insaturados e esteróis, nas extracções efectuadas a frio.

Na tabela 21, estão apresentados resultados experimentais e retirados da literatura, que permitem uma análise comparativa, do perfil de ácidos gordos. Neste caso, foram utilizados apenas os dados das extracções efectuadas a quente com éter de petróleo, visto que são aquelas que permitem uma comparação directa de dados, uma vez que foram obtidas nas mesmas condições.

Os resultados obtidos neste trabalho estão em bastante consonância com os publicados pelos autores abaixo referidos excepto no que se refere às concentrações de ácido oleico e ácido linoleico que apresentam diferenças bastante marcadas relativamente aos valores publicados.

Como se referiu anteriormente as condições cromatográficas de que se dispunha não foram as ideais para a separação destes dois ácidos sobretudo tendo em conta que são os componentes maioritários dos óleos. Se considerarmos a sua concentração conjunta os resultados obtidos são concordantes com os que encontrámos na literatura relativamente a sementes da mesma variedade. No entanto o esclarecimento da relação de concentrações entre estes dois componentes requer que sejam realizados testes adicionais numa coluna cromatográfica com uma fase apropriada e eventualmente numa concentração mais reduzida de forma a permiti a separação destes componentes ao nível da linha de base.

Não parece provável que esta diferença se deva às condições de extracção do óleo pois foi observada tanto na extracção a quente como na extracção a frio.

**Tabela 21 – Comparação das concentrações relativas de ácidos gordos individuais obtidas neste trabalho e as determinadas por outros autores para sementes das mesmas variedades do género *Opuntia*.**

Composto	O. DILLENII <sup>a</sup>	O.FICUS-INDICA <sup>b</sup>	O.FICUS-INDICA Verde	O.FICUS-INDICA Laranja	O. DILLENII
Ácido tetradecanóico (C14:0)	-	0,11 - 0,27	0,55	0,15	0,27
Ácido hexanóico (C16:0)	13,52 - 19,78	9,32 - 15,91	7,09	8,86	8,50
Ácido hexenóico (C16:1)	0,27	0,75 - 1,80	1,05	1,99	1,73
Ácido Heptadecanóico (C17:0)	-	0,05 - 0,07	0,09	0,13	0,12
Ácido Heptadecenóico (C17:1)	-	-	0,40	0,13	0,12
Ácido octadecanóico (C18:00)	2,75 - 9,01	2,59 - 5,4	2,74	4,37	3,03
Ácido octadecenóico (C18:1)	0,00	16,8 - 28,6	52,37	51,13	45,79
Ácido octadecadienóico (C18:2)	2,65 - 79,83	49,3 - 70,3	1,31	5,94	4,38
Ácido eicosanóico (C20:00)	-	0,17 - 0,66	1,40	0,96	0,91
Ácido Eicosenóico (C20:1)	-	0,16 - 0,8	0,81	1,46	1,51
Ácido eicosadienóico C20:2	-	0,20-0,30	0,23	0,19	0,16
Heneicosanóico (C21:0)	-	0,00	0,11	0,08	0,06
Ácido docosanóico (C22:0)	-	0,15 - 0,53	0,85	0,82	0,73
Ácido docosenóico (C22:1)	-	0,00	0,91	0,89	1,04
Ácido tricosanóico (C23:0)	-	0,00	0,17	0,13	0,67
Ácido tetracosanóico (C24:0)	-	0,19	0,71	0,50	0,53
Ácido tetracosenóico (C24:1)	-	0,00	0,26	0,49	0,3
Ácido tetracosadienóico (C24:2)	-	0,00	0,46	0,00	0,26
Ácido hexacosanóico (C26:0)	-	0,00	0,50	0,21	0,41
Σ AG saturados	16,27 - 28,79	12,43 - 22,8	14,21	16,21	15,23
Σ AG insaturados	69,48 - 80,10	76,18 - 88,52	57,80	62,22	55,29
Σ AG monoinsaturados	0,27	18,22 - 22,43	55,80	56,09	50,49
Σ AG poliinsaturados	69,21 - 79,83	56,08 - 70,30	2,00	6,13	4,80
Σ AG insaturados/Σ AG saturados	2,78 - 4,27	3,34 - 7,11	7,99	7,30	6,95

Fontes: a) Ghazi e tal., 2013; Liu et al., 2009. b) El Mannoubi et al., 2009; Ennouri et al., 2005; Chougui et al., 2013; Coskuner & Tekin, 2003; Ramadan & Morsel, 2003a; Matthausa & Ozcan, 2011; Yeddes et al., 2012; El Finti et al., 2013.

A presença de alcoois esterólicos foi avaliada considerando os álcoois esterólicos totais uma vez que não dispunhamos de padrões cromatográficos para efectuar a sua identificação tentativa. As quantidades que foram detectadas nos óleos extraídos neste trabalho foram substancialmente inferiores às obtidas por outros autores a partir de sementes das mesmas variedades.

Este resultado pode dever-se à diferente época de recolha e ao estado fisiológico do figo que deverá influenciar de forma importante a produção destes metabolitos secundários (Tabela 22).

**Tabela 22 – Comparação dos teores relativos de álcoois esterólicos presentes nos óleos de semente extraídos neste trabalho e obtidos por outros autores.**

COMPOSTO	<i>OPUNTIA FICUS-INDICA</i> <sup>a</sup>	<i>OPUNTIA DILLENII</i> <sup>b</sup>	<i>OPUNTIA FICUS-INDICA</i>	<i>OPUNTIA DILLENII</i>
Colesterol	0,01	-	-	-
Campesterol	1,66 - 3,75	0,51	-	-
Stigmasterol	0,30 - 1,64	-	-	-
Lanosterol	0,28	-	-	-
$\beta$ -Sitosterol	6,75 - 21,93	2,80	-	-
Sitostanol	0,57	-	-	-
Fucosterol	-	0,27	-	-
$\Delta^5$ -Avenasterol	0,29 - 0,82	-	-	-
$\Delta^7$ -Avenasterol	0,05 - 0,23	-	-	-
Total	9,91 - 29,23	3,58	0,51 - 1,71	1,36 - 3,12

Fontes: a) Ramadan & Morsel, 2003a; b) Ghazi e tal., 2013; El Mannoubi et al., 2009

### 3.2.4. Avaliação da presença de compostos antioxidantes no resíduo de semente

A avaliação da actividade antioxidante das sementes de *Opuntia*, foi efectuada através de três métodos distintos: o teste de Folin-Ciocalteu, ensaio de redução do radical DPPH e o ensaio de FRAP.

A utilização de diversos testes permite avaliar de uma forma mais completa as propriedades funcionais das matrizes em estudo pois diferentes componentes bioactivos respondem de forma diversa em diferentes condições de teste.

#### 3.2.4.1. Teste de Folin-Ciocalteu

A quantificação dos fenólicos totais nos figos-da-Índia através do método de Folin-Ciocalteu, revelou uma gama de valores entre 13,1 a 87,3 mg/L equivalentes de ácido gálico (EAG), apresentados na Tabela 23.



**Tabela 23 – Compostos fenólicos totais, em sementes de *Opuntia*, determinados através do método de Folin-Ciocalteu.**

	MÉTODO A QUENTE – SOXHLET		MÉTODO A FRIO	
	ÉTER DE PETRÓLEO (EAG mg/L)	ACETONA (EAG mg/L)	ÉTER DE PETRÓLEO (EAG mg/L)	ACETONA (EAG mg/L)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Verde)	66,3 ± 0,29 <sup>g</sup>	21,4 ± 0,17 <sup>b</sup>	65,8 ± 0,13 <sup>g</sup>	42,9 ± 0,13 <sup>e</sup>
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Laranja)	87,3 ± 0,42 <sup>i</sup>	28,9 ± 0,21 <sup>c</sup>	86,9 ± 0,27 <sup>i</sup>	54,6 ± 0,08 <sup>f</sup>
<i>Opuntia dillenii</i>	77,8 ± 0,30 <sup>h</sup>	13,1 ± 0,33 <sup>a</sup>	78,1 ± 0,25 <sup>h</sup>	36,3 ± 0,17 <sup>d</sup>

Existiram diferenças significativas entre amostras, relativamente aos métodos e solventes utilizados ( $p < 0,05$ ).

Em relação aos dois solventes utilizados, o éter de petróleo apresenta valores significativamente superiores, em comparação com a acetona.

Esta ocorrência, pode ser explicada pela co-extração de fenólicos, que deverá ter ocorrido durante a extração com a acetona, fazendo com que alguns fenólicos tenha sido extraídos com o óleo, diminuindo assim, a quantidade de fenólicos detectada no resíduo obtido após a extração do óleo.

A diferença entre o teor de compostos fenólicos detectados no resíduo após a extração com éter de petróleo e após a extração com acetona corresponde aos compostos fenólicos que poderão ter sido co-extraídos. Esta diferença indica que a extração do óleo com acetona pode permitir a co-extração de diversos compostos fenólicos produzindo um óleo com propriedades funcionais mais relevantes. Esta é no entanto apenas uma hipótese de estudo uma vez que o teor de compostos fenólicos dos óleos extraídos não foram avaliados directamente neste trabalho.

Nas referências bibliográficas, apenas foi possível encontrar um artigo com a quantificação dos fenólicos totais através do método de Folin-Ciocalteu. A metodologia adoptada por Chougui e colaboradores (2013), apenas considerou a extração por Soxhlet, desta forma, na Tabela 24, estão representados os resultados obtidos nesse estudo e durante este trabalho.

**Tabela 24 – Fenólicos totais presentes em sementes de *Opuntia*.**

	ÉTER DE PETRÓLEO (EAG mg/L)	ACETONA (EAG mg/L)	LITERATURA (EAG mg/L)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Verde)	66,3 ± 0,29	42,9 ± 0,13 <sup>E</sup>	34,8
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Laranja)	87,3 ± 0,42	54,6 ± 0,08 <sup>F</sup>	51,8
<i>Opuntia dillenii</i>	77,8 ± 0,30	36,3 ± 0,17 <sup>D</sup>	–

Fonte: Chougui et al., 2013

Da comparação com os resultados obtidos, retira-se que as quantidades de fenólicos totais, extraídos tanto por éter de petróleo como por acetona, presentes nas amostras analisadas, são superiores aos valores referenciados por Chougui e colaboradores (2013).

Embora não existam determinações similares efectuadas para a *Opuntia dillenii*, regista-se o mesmo comportamento descrito para as duas variedades de *Opuntia ficus-indica*.

### 3.2.4.2. Ensaio de redução do radical DPPH

A actividade anti-radicalar perante o DPPH das amostras, foi expressa em equivalentes de ácido gálico, em mg/L. Os resultados deste ensaio estão apresentados na Tabela 25.

**Tabela 25 – Actividade anti-radicalar das sementes de figo-da-Índia.**

	MÉTODO A QUENTE – SOXHLET		MÉTODO A FRIO	
	ÉTER DE PETRÓLEO (EAG mg/L)	ACETONA (%) (EAG mg/L)	ÉTER DE PETRÓLEO (EAG mg/L)	ACETONA (%) (EAG mg/L)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Verde)	35,6 ± 0,07 <sup>d</sup>	12,1 ± 0,15 <sup>a</sup>	35,6 ± 0,06 <sup>d</sup>	12,9 ± 0,11 <sup>a</sup>
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Laranja)	50,1 ± 0,19 <sup>f</sup>	29,1 ± 0,07 <sup>c</sup>	50,1 ± 0,06 <sup>f</sup>	29,0 ± 0,24 <sup>c</sup>
<i>Opuntia dillenii</i>	42,2 ± 0,11 <sup>e</sup>	20,7 ± 0,26 <sup>b</sup>	42,2 ± 0,07 <sup>e</sup>	20,5 ± 0,15 <sup>b</sup>

A actividade antiradicalar face ao DPPH dos figos analisados apresenta uma gama de valores 12,1 e 50,1 mg/L de equivalentes de ácido gálico.

Os resultados demonstraram que as três amostras apresentaram diferenças significativas entre os métodos e solventes usados ( $p < 0,05$ ).

Ao contrário da quantificação efectuada anteriormente, não existiram diferenças significativas entre os dois métodos de análise, existindo apenas entre solventes, uma vez que as extrações com acetona, exibiram uma actividade anti-radicalar, significativamente inferior, quando comparadas com as extrações efectuadas com o éter de petróleo.

Esta observação poderá ser explicada pela mesma hipótese colocada anteriormente segundo a qual os compostos com actividade antiradicalar poderão ter sido co-extraídos com o óleo em maior proporção quando se utilizou como solvente a acetona.

### 3.2.4.3. Ensaio do FRAP

O poder de redução férrica das amostras analisadas é apresentado sob a forma de equivalentes de FeSO<sub>4</sub> em mM. Os resultados estão representados na Tabela 26.

**Tabela 26 – Poder redutor férrico das sementes de Opuntia.**

	MÉTODO A QUENTE – SOXHLET		MÉTODO A FRIO	
	ÉTER DE PETRÓLEO (eq FeSO <sub>4</sub> mM)	ACETONA (%) (eq FeSO <sub>4</sub> mM)	ÉTER DE PETRÓLEO (eq FeSO <sub>4</sub> mM)	ACETONA (%) (eq FeSO <sub>4</sub> mM)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Verde)	25,3 ± 0,04 <sup>b</sup>	14,2 ± 0,04 <sup>a</sup>	25,3 ± 0,05 <sup>b</sup>	14,2 ± 0,06 <sup>a</sup>
<i>Opuntia ficus-indica</i> (Laranja)	25,6 ± 0,09 <sup>b</sup>	14,4 ± 0,04 <sup>a</sup>	25,5 ± 0,22 <sup>b</sup>	14,4 ± 0,06 <sup>a</sup>
<i>Opuntia dillenii</i>	25,0 ± 0,07 <sup>b</sup>	14,2 ± 0,09 <sup>a</sup>	25,0 ± 0,05 <sup>b</sup>	14,1 ± 0,05 <sup>a</sup>

O poder de redução férrica dos figos analisados, apresenta um mínimo e um máximo de 14,1 e 26,6 mM de FeSO<sub>4</sub>, respectivamente.

Existiram diferenças significativas entre solventes, uma vez que as extrações dos resíduos tratados com éter de petróleo, exibiram um poder de redução férrica significativamente superior, quando comparadas com as extrações efectuadas com acetona. Por outro lado, não existiram diferenças significativas entre métodos.

Mais uma vez a hipótese de co-extração de componentes redutores pela acetona justifica os resultados observados.

## **CAPÍTULO 4 CONCLUSÕES**

O figo da variedade *Opuntia ficus indica* (variedade verde) apresentou um maior peso e proporção de polpa pelo que tem características mais adequadas à sua valorização como fruto fresco ou em sumos dos que as duas outras variedades especialmente a *Opuntia dillenii* que apresentou a maior quantidade relativa de sementes e menor quantidade relativa de polpa.

As sementes de figos do género *Opuntia* podem ser valorizadas directamente em rações alimentares pois apresentam valores relativamente elevados de lípidos ricos em ácidos gordos poliinsaturados, compostos fenólicos que são conhecidos pela sua actividade antioxidante e ainda quantidades significativas de fibras e carboidratos que lhes conferem boas propriedades nutricionais.

A extracção do óleo de semente pode ser efectuada a quente ou a frio sendo o método a frio uma simples imersão no solvente de extracção o que se traduz numa operação com uma complexidade mínima do ponto de vista de equipamento e que ainda assim permite a extracção de quantidades apreciáveis do óleo de semente.

A acetona poderá ser um solvente alternativo com algum interesse pois pode ser recuperado a uma temperatura mais baixa e poderá promover a co-extracção de compostos com actividade antioxidante.

Uma vez que a actividade antioxidante de uma matriz é uma propriedade multifactorial, que depende de vários componentes, realizaram-se diversos ensaios de forma a avaliar a capacidade antioxidante total dos resíduos das sementes dos diversos figos. Este aspecto foi abordado ao analisar o seu poder de redução férrica, a sua actividade antiradicalar frente a um radical sintético, o DPPH e por último determinou-se ainda a sua composição em fenólicos totais, através do método de Folin-Ciocalteu.

A partir de todos os ensaios de determinação da actividade antioxidante, podemos concluir que das três amostras analisadas, os resíduos das sementes dos figos *Opuntia ficus-indica* (variedade laranja) foram aqueles que apresentaram maior actividade antioxidante residual.

Os resultados referentes às sementes da variedade *Opuntia dillenii* considerada naturalizada em Portugal, são do nosso conhecimento, os primeiros obtidos sobre esta variedade produzida no nosso país e poderão contribuir para a sua exploração comercial uma vez que como se referiu em relação a outros países, as variedades naturalizadas são as mais susceptíveis de exploração em larga escala.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, M. S., El Tanbouly, N. D., Islam, W. T., Sleem, A. A., & El Senousy, A. S. (2005). Antiinflammatory flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw. Flowers growing in Egypt. *Phytotherapy Research*, 19, 807-809.
- Alimi, H., Hfaiedha, N., Bouonia, Z., Hfaiedha, M., et al. (2010). Antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. inermis root extract in rats. *Phytomedicine*, 17, 1120-1126.
- Alves, M. A., Souza, A. C. M., Rojas, G. G., & Guerra, N. B. (2008). Fruto de Palma [*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, *Cactaceae*]: morfologia, composição química, fisiologia, índices de colheita e fisiologia pós-colheita. *Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha*, 9, 16-25.
- Ammara, I., Ennouri, M., Khemakhem, B., Yanguì, T., & Attia, H. (2010). Variation in chemical composition and biological activities of two species of *Opuntia* flowers at four stages of flowering. *Industrial Crops and Products*, 37, 34-40.
- Anderson, E. F. (2001). *The cactus family*. USA, Oregon: Timber Press.
- Andjelkovic, M., Van Camp, J., Trawka, A., & Verhe, R. (2010). Phenolic compounds and some quality parameters of pumpkin seed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 208-217.
- Andrade, C. A., Costa, C. K., Bora, K., Miguel, M. D., Miguel, O. G. & Kerber, V. A. (2007). Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, *Leguminosae-mimosoideae*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 17, 231-235.
- AOAC. (1990). *Official methods of analyses*. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, K., et al. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assay applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12, 1496-1547.
- Awad, A. B., Chinnam, M., Fink C. S. & Bradford, P. G. (2007).  $\beta$ -sitosterol activates Fas signaling in human breast cancer cells. *Phytomedicine*, 14, 747-754.
- Ayadi, M. A., Abdelmaksoud, W., Ennouri, M. & Attia, H. (2009). Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. *Industrial Crops and Products*, 30, 40-47.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475

Barbera, G. (1995). History, economic and agro-ecological importance. In G. Barbera, P. Inglese, & E. Pimienta-Barrios. (Eds.), *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear* (pp. 1-12). FAO Plant production and protection paper.

Barbera, G., Carimi, F., & Inglese, P. (1992). Past and Present role of the Indian-fig prickly pear (*Opuntia ficus-indica* ( L ) Miller, *Cactaceae*) in the agriculture of Sicily. *Economic botany*, 46, 10-20.

Barbera, G., Inglese, P., & Pimienta, E. (1999). Agroecología, cultivo y usos del nopal. *Estudio FAO producción y Protección Vegetal*, 225, 132.

Baydar, N. G., Özkan, G., & Çetin, E. S. (2007). Characterization of grape seed and pomace oil extracts. *Grasas y Aceites*, 58, 29-33.

Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S. G., & Goñi, I. (2010). By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65, 210-216.

Benzie, I. F. F. & Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.

Bhatt, M. R. & Nagar, P. S. (2013). Evaluation of physicochemical property and fatty acid composition of *Opuntia elatior* seed oil. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 15, 13-19.

Bíblia, Genesis 1:29. Português. *Bíblia Sagrada*. Difusora Bíblica, 2001.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28, 25-30.

Brutsch, M. O. & Zimmermann, H. G. (1995). Control and utilization of wild *Opuntias*. In G. Barbera, P. Inglese, & E. Pimienta-Barrios. (Eds.), *Agro-ecology, cultivation and use of cactus pear* (pp.155-166). Rome: FAO Plant Production and Protection Paper 132.

Bryson, B. (2007). *Uma breve história de quase tudo*. Quetzal Editores.

Buratti, S., Benedetti, S., & Cosio, M. S. (2007). Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta*, 71, 1387-1392.

Cai, W., Gu, X., & Tang, J. (2008). Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*. *Carbohydrate Polymers*, 71, 403-410.

Carvalho, J. S. (1994). *A Metodologia nas Humanidades*. Editorial Inquérito.

Castellanos-Santiago, E. & Yahia, E. M. (2008). Identification and Quantification of Betalains from the Fruits of 10 Mexican Prickly Pear Cultivars by High-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5758-5764.

Cayupan, Y., Ochoa, M., & Nazareno, M. (2011). Health-promoting substances and antioxidant properties of *Opuntia sp.* fruits. Changes in bioactive-compound contents during ripening process. *Food Chemistry*, 126, 514-519.

Choi, Y. & Lee, J. (2009). Antioxidant and antiproliferative properties of a tocotrienol-rich fraction. *Food Chemistry*, 114, 1386-1390.

Choi, Y. H., Kong, K. R., Kim, Y. A., Jung, K.O., et al. (2003). Induction of Bax and activation of caspases during  $\beta$ -sitosterol mediated apoptosis in human colon cancer cells. *International Journal of Oncology*. 23, 1657-1662.

Chougui, N., Tamendjari, A., Hamidj, W., Hallal, S., et al. (2013). Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. *Food Chemistry*, 139, 796-803.

Corrales, J. & Flores, C. A. (2003). Tendencias actuales y futuras en el procesamiento del nopal y la tuna. In J. Corrales & C. A. Flores. (Eds.), *Nopalitos y tunas, producción, comercialización, poscosecha e industrialización* (pp. 167-215). Mexico: Universidad Autónoma Chapingo.

Coskuner, Y. & Tekin, A. (2003). Monitoring of seed composition of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) fruits during maturation period. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 846-849.

Cunha, A. P., Silva, A. P., & Roque, O. R. (2003). *Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.

Dalmolin, I., Mazutti, M. A., Batista, E. A. C., Meireles, M. A. A., & Oliveira, J. V. (2010). Chemical characterization and phase behaviour of grape seed oil in compressed carbon dioxide and ethanol as co-solvent. *Journal Chem. Thermodynamics*, 42, 797-801.

De Leo, M., De Abreu, M. B., Pawlowska, A. M., Cioni, P. L., & Braca, A. (2010). Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC–PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses. *Phytochemistry Letters*, 3, 48-52.



- Del-Valle, V., Hernández-Muñoz, P., Guarda, A., & Galotto, M. J. (2005). Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus-indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chemistry* 91, 751-756.
- Demirbas, A. (2009). Political, economic and environmental impacts of biodiesels: a review. *Appl. Energy*, 86, 108-117.
- Demirbas, A. (2010). Oil, micronutrient and heavy metal contents of tomatoes. *Food Chemistry*, 118, 504-507.
- Medina, E. M. D., Rodriguez E. M., & Romero, C. D. (2007). Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica* fruits. *Food Chemistry*, 103, 38-45.
- Directive 2003/30/EC. Official Journal of the European Union, L123/42, May 17, 2003.
- Duru, B. & Turker, N. (2005). Changes in Physical properties and Chemical Composition of Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) During Maturation. *Journal PACD*, 22-33.
- El Finti, A., El Boullani, R., Fallah, M., Msanda, F., & El Mousadik, A. (2013). Assessment of some agro-technological parameters of cactus pear fruit (*Opuntia ficus-indica* Mill.) in Morocco cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7, 2574-2583.
- El Mannoubi, I., Barrek, S., Skanji, T., Casabianca, H., & Zarrouk, H. (2009). Characterization of *Opuntia ficus indica* seed oil from Tunisia. *Chemistry of Natural Compounds*, 45, 616-620.
- El-Kossori, R. L., Villaume, C., El-Boustani, E., Sauvaire, Y., & Mejean, L. (1998). Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus-indica* sp.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 52, 263-270.
- Eller, F. J., Moser, J. K., Kenar, J. A., & Taylor, S. L. (2010). Extraction and Analysis of Tomato Seed Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 755-762.
- Ennouri, M., Evelyne, B., Laurence, M., & Hamadi, A. (2005). Fatty acid composition and rheological behavior of prickly pear seed oils. *Food Chemistry*, 93, 431-437.
- Ennouri, M., Fetoui, H., Bourret, E., Zeghal, N., & Attia, H. (2006a). Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*. 1. Influence of a seed oil supplemented diet on rats. *Bioresource Technology*, 97, 1382-1386.
- Ennouri M., Fetoui, H., Bourret, E., Zeghal, N., Attia, H., & Guermazi, F. (2006b). Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*. 2. Influence of seed supplemented diet on rats. *Bioresource Technology*, 97, 2136-2140.

Ennouri, M., Fetoui, H., Hammami, M., Bourret, E., Attia, H., & Zeghal, N. (2007). Effects of diet supplementation with cactus pear seeds and oil on serum and liver lipid parameters in rats. *Food Chemistry*, 101, 248-253.

European Commission, 1975, Council Directive 75=442=EEC of July 15, 1975, on waste Regulation (EC) No. 1882=2003 of the European Parliament and of the Council (last amended September 29, 2003).

Eurostat, 2005, WAQ1=Generation of waste by economic sector and households, Statistical Office of the European Communities.

Fahimdanesh M. & Bahrami M. E. (2013). Evaluation of Physicochemical Properties of Iranian Tomato Seed Oil. *Journal of Nutrition & Food Science*, 3, 206.

Fernandes, L., Casal, S., Cruz, R., Pereira, J. A., & Ramalhosa, E. (2013). Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Research International*, 50, 161-166.

Ferrari, R. A., Colussi, F., & Ayub, R. A. (2004). Characterization of by-products of passion fruit industrialization utilization of seeds. *Rev Bras Frutic*, 26, 101-102.

Ferrari, R., Oliveira, V. & Scabio, A., 2005. Biodiesel de Soja – Taxa de Conversão em Ésteres Etílicos, Caracterização Físicoquímica e consumo em gerador de Energia, *Química Nova* 28, 19–23.

Feugang, J., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F. C., & Zou, C. (2006). Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience*, 11, 2574-2589.

Finkel, T. & Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408, 239-247.

FIPA, 2013. Plano para a Rotulagem Nutricional. Federação de Indústrias Portuguesas Agro-Alimentares.

Fukuda, H., Kondo, A. & Noda, H. (2001). Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 92, 405-16.

Galati, E. M., Monforte, M. T., Tripodeo, M. M., d'Aquino, A., & Mondello, M. R. (2001). Antiulcer activity of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill (*Cactaceae*): ultrastructural study. *Journal of Ethnopharmacology*, 76, 1-9.

Galati, E. M., Mondello, M. R., Giuffrida, D., Dugo, G., et al. (2003). Chemical Characterization and Biological Effects of Sicilian *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4903-4908.

- Garcia, J. C., Valdivia, C. B. P., Martinez, Y. R., & Hernández, M. S. (2004). Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitos (*Opuntia spp.*). *Postharvest Biology and Tecnhnology. Postharvest Biology and Technology*, 32, 169-174.
- Gekas, V. & Nikolopoulou, M. (2007). Introduction to food waste treatment: The 14001 standards. In V. Oreopoulou & W. Russ. (Eds.), *Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry* (pp. 15-30). New York: Springer Verlag.
- Ghazi, Z., Ramdani, M., Fauconnier, M. L., El Mahi, B., & Cheikh, R. (2013). Fatty acids Sterols and Vitamin E composition of seed oil of *Opuntia Ficus Indica* and *Opuntia Dillenii* from Morocco. *Journal of Materials Environmental Science*, 4, 967-972.
- Giannelos, P. N., Sxizas, S., Lois, E., Zannikos, F., & Anastopoulos, G. (2005). Physical, chemical and fuel related properties of tomato seed oil for evaluating its direct use in diesel engines. *Industrial Crops and Products*, 22, 193-199.
- Ginestra, G., Parker, M. L., Bennett, R. N., Robertson, J., et al. (2009). Anatomical, Chemical, and Biochemical Characterization of Cladodes from Prickly Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 10323-10330.
- Gonzalez, F. J. & Jarabo, S. M. M. (1990). *La chumbera como cultivo de zonas áridas*. Espanha, Madrid: Hojas Divulgadoras 90, p. 24.
- Goycoolea, F. M. & Cárdenas, A. (2003). Pectins from *Opuntia spp.*: A Short Review. *Journal PACD*, 17-29.
- Griffith, M. P. (2004). The origins of an importante cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): New molecular evidence. *American Journal of Botany*, 91, 1915-1921.
- Gruber, A., Pop, I. M., Păsărin, B., & Albu, A. (2011). Nutritional Evaluation of Raw Materials Entering the Structure to Mixed Fodder for the Specie *Poecilia reticulata* (Guppy). *Journal of Animal Science and Biotechnologies*, 44, 51-54.
- Guevara-Figueroa, T., Jimenez-Islas, H., Reyes-Escogido, M., Mortensen, A., et al. (2010). Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia spp.*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 525-532.
- Habibi, Y., Mahrouz, M., & Vignon, M. R. (2005a). Isolation and structural characterization of protopectin from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Polymers*, 60, 205-213.

- Habibi, Y., Mahrouz, M., & Vignon, M. R. (2005b). Arabinan-rich polysaccharides isolated and characterized from the endosperm of the seed of *Opuntia ficus indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*, 60, 319-329.
- Habibi, Y., Heyraud, A., Mahrouz, M., & Vignon, M. R. (2004a). Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*, 339, 1119-1127.
- Habibi, Y., Mahrouz, M., Vignon, M. R., & Marais M. F. (2004b). An arabinogalactan from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*, 339, 1201-1205.
- Habibi, Y., Heux, L., Mahrouz, M., & Vignon, M. R. (2008). Morphological and structural study of seed pericarp of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Polymers*, 72, 102-112.
- Hac-Wydro, K., Flasiński, M., Broniatowski, M., Łatka, P. D., & Majewski, J. (2011). Properties of b-sitostanol/DPPC monolayers studied with Grazing Incidence X-ray Diffraction (GIXD) and Brewster Angle Microscopy. *Journal of Colloid and Interface Science*, 364, 133-139.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*, 344, 721-724.
- Hamou, A. A. (2007). An Overview On Medicinal And Cosmetic Uses Of Cactus In Morocco. *Cactusnet*, 11, 51-56.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Inglese, P. (2009). Cactus pear, *Opuntia ficus-indica* L. (Mill.) for fruit production: na overview. *Cactusnet*, 12, 82-92.
- Inglese, P., Barbera, G., & La Mantia, T. (1995). Research strategies for the improvement of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit quality and production. *Journal of Arid Environments*, 29, 455-468.
- Jorge, A. J., Heliodoro, G. T., Alejandro, Z. C., Ruth, B. C., & Noé, A. C. (2013). The optimization of phenolic compounds extraction from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) skin in a reflux system using response surface methodology. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3, 436-442.
- Kabas, O., Ozmerzi, A., & Akinci, I. (2006). Physical properties of cactus pear (*Opuntia ficus indica* L.) grown wild in Turkey. *Journal of Food Engineering*, 73, 198-202.
- Kamela, B. S. & Kakudab, Y. (1992). Characterization of the Seed Oil and Meal from Apricot, Cherry, Nectarine, Peach and Plum. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69, 492-494.

- Karmakar, A., Karmakar, S., & Mukherjee, S. (2010). Properties of various plants and animals feedstocks for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 101, 7201-7210.
- Khales, A. & Baaziz, M. (2005). Quantitative and qualitative aspects of peroxidases extracted from cladodes of *Opuntia ficus indica*. *Scientia Horticulturae*, 103, 209-218.
- Kiesling, R. (2013). Historia de la *Opuntia ficus-indica*. *Cactusnet*, 13, 13-18.
- Kim, M. Y., Kim, E. J., Kim, Y. N., Choi, C., & Lee, B. H. (2012). Comparison of the chemical compositions and nutritive values of various pumpkin (*Cucurbitaceae*) species and parts. *Nutrition Research and Practice*, 6, 21-27.
- Kishore, R. K., Halim, A. S., Syazana, M. S., & Sirajudeen, K. N. (2011). Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources. *Nutrition Research*, 31, 322-325.
- Kris-Etherton, P. M. (1999). Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 100, 1253-1258.
- Labuschagne, M. T. & Hugo, A. (2010). Oil Content and Fatty Acid Composition of Cactus Pear Seed Compared with Cotton and Grape Seed. *Journal of Food Biochemistry*, 34, 93-100.
- Le Houerou, H. N. (1992). The role of *Opuntia cati* in the agricultural development of the Mediterranean arid zones, Proc. 2<sup>nd</sup> International Congress on Prickly Pear and Cochineal. p. 22-25.
- Leo, M., De Abreu, M. B., Pawlowska, A. M., Cioni, P. L., & Braca, A. (2010). Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC–PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses. *Phytochemistry Letters*, 3, 48-52.
- Li, C. R., Zhou, Z., Lin, R. X., Zhu, D., et al. (2007).  $\beta$ -sitosterol decreases irradiation-induced thymocyte early damage by regulation of the intracellular redox balance and maintenance of mitochondrial membrane stability. *Journal of Cellular Biochemistry*, 102, 748-758.
- Liu, M., Li, X. Q., Weber, C., Lee, C. Y., Brown, J., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2926-2930.
- Liu, W., Fu, Y. J., Zu, Y. G., Tong, M. H., et al. (2009). Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from *Opuntia dillenii* Haw. and its antioxidant activity. *Food Chemistry*, 114, 334-339.
- Lopez-Huertas, E. (2010). Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological Research*, 61, 200-207.

- Madjdoub, H., Roudesli, S., Picton, L., Le Cerf, D., Muller, G., & Grisel, M. (2001). Prickly pear nopals pectin from *Opuntia ficus indica*. Physicochemical study in dilute and semidilute solutions. *Carbohydrate Polymers*, 46, 69-79.
- Malacrida, C. R. & Jorge, N. (2012). Yellow Passion Fruit Seed Oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): Physical and Chemical Characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55, 127-134.
- Malainine, M. E., Dufresne, A., Dupeyre, D., Mahrouz, M., Vuong, R., & Vignon, M.R. (2003). Structure and morphology of cladodes and spines of *Opuntia ficus-indica*. Celululose extration and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 51, 77-83.
- Marchante, E., Marchante, H., Carvalho, V., & Tavares, J. (2005). Projecto INVADER – 10 *Cactaceae* – Figueira-da-Índia.
- Matthausa, B. & Ozcan, M. M. (2011). Habitat effects on yield, fatty acid composition and tocopherol contents of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) seed oils. *Scientia Horticulturae*, 131, 95-98.
- Medina, E. M. D., Rodríguez, E. M. R., & Romero, C. D. (2007). Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. *Food chemistry*, 103, 38-45.
- Moghadasian, M. H. (2000). Pharmacological properties of plant sterols: in vivo and in vitro observations. *Life Sciencies*, 67, 605-15.
- Moghadasian, M. H., Mc Manus, B. M., Pritchard, P. H., & Frohlich, J. J. (1997). Tall oil -derived phytosterols reduce atherosclerosis in Apo-E-deficient mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 17, 119-126.
- Moghadasian, M. H., Mc Manus, B. M., Godin, D. V., Rodrigues, B., & Frohlich, J. J. (1999). Pro-atherogenic and anti-atherogenic effects of probucol and phytosterols in apolipoprotein E-deficient mice: possible mechanisms of action. *Circulation*, 99, 1733-1739.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, 26, 211-219.
- Moon, D. O., Lee, K. J., Choi, Y. H., & Kim, G. Y. (2007).  $\beta$ -Sitosterol-induced-apoptosis is mediated by the activation of ERK and the downregulation of Akt in MCA-102 murine fibrosarcoma cells. *International Immunopharmacology*, 7, 1044-1053.
- Morales, P., Ramírez-Moreno, E., Sanchez-Mata, M. C., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2012). Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguët and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International*, 46, 279-285.

- Moreno, P. R. & Valdéz, C. F. (1996). The World Cactus-Pear Market. *Journal PACD*, 75-86.
- Nefzaoui, A. & El Mourid, M. (2009). Cactus pear for soil and water conservation in arid and semi-arid lands. *Cactusnet*, 12, 117-126.
- Nefzaoui, A., Nazareno, M., & El Mourid, M. (2007). Review Of Medicinal Uses Of Cactus. *Cactusnet*, 11, 3-17.
- Nobel, P. S. (1983). Nutrient levels in cacti in relation to nocturnal acid accumulation and growth. *American Journal Botany*, 70, 1244-1253.
- Nobel, P. S. & De la Barrera, E. (2003). Tolerances and acclimation to low and high temperatures for cladodes, fruits and roots of a widely cultivated cactus, *Opuntia ficus indica*. *New Phytol*, 157, 271-279.
- Nyanzia, S. A., Carstensen, B., & Schwack, W. (2005). A Comparative Study of Fatty Acid Profiles of *Passiflora* Seed Oils from Uganda. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82, 41-44.
- Oreopoulou, V. & Tzia C. (2007). Utilization of plant by-products for the recovery of proteins, dietary fibers, antioxidants, and colorants. In V. Oreopoulou & W. Russ. (Eds.), *Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry* (pp. 209-232). New York: Springer Verlag.
- Ozer, K. N., Negis, Y., & Aytan, N. (2003). Molecular mechanisms of cholesterol or homocysteine effect in the development of atherosclerosis: role of vitamin E. *Biofactors*, 19, 63-70.
- Pardo, J. E., Fernández, E., Rubio, M., Alvarruiz, A., & Alonso, G. L. (2009). Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 188-193.
- Patel, S. (2013). Pumpkin (*Cucurbita sp.*) seeds as nutraceutic: a review on status quo and scopes. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 6, 183-189.
- Piattelli, M. & Imperato, F. (1969). Betacyanins of the family *Cactaceae*. *Phytochemistry*, 8, 1503-1507.
- Piironen, V., Lindsay, D. G., Miettinen, T. A., Toivo, J., & Lampi, A. M. (2000). Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J Sci Food Agric*, 80, 939-66.
- Piombo, G., Barouh, N., Barea, B., Boulanger, R., et al. (2006). Characterization of the seed oils from kiwi (*Actinidia chinensis*), passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*). *Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, 13, 195-199.
- Portillo, L. & Vigueras, A. L. (2013). Cría de grana cochinilla del nopal. *Cactusnet*, 13, 85-94.

- Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Food and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290-4306.
- Procida, G., Stancher, B., Catenia, F., & Zacchignaa, M. (2013). Chemical composition and functional characterisation of commercial pumpkin seed oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 1035-1041.
- Ramadan, M. F. & Morsel, J.T. (2003a). Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food Chemistry*, 82, 339-345.
- Ramadan, M. F. & Mörsel J. T. (2003b). Recovered lipids from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill] peel: a good source of polyunsaturated fatty acids, natural antioxidant vitamins and sterols. *Food Chemistry*, 83, 447-456.
- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., & Kumar, M. N. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, 113, 189-207.
- Romano, G. (2013). Colección de *Opuntia* en El National Arid Land Plant Genetic Resources Unit. *Cactusnet*, 13, 19-27.
- Roura, E., Andrés-Lacueva, C., Estruch, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. *Methods Enzymology*, 299, 152-178.
- Roy, B. C., Goto, M., & Hirose, T. (1996). Temperature and pressure effects on supercritical CO<sub>2</sub> extraction of tomato seed oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 31, 137-141.
- Russ, W. & Schnappinger, M. (2007). Waste related to the food industry: A challenge in material loops. Vol. 3. New York: Springer Verlag. p. 1–14.
- Sabir, A., Unver, A., & Kara, Z. (2012). The fatty acid and tocopherol constituents of the seed oil extracted from 21 grape varieties (*Vitis spp.*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 982-1987.
- Sáenz, C. (2000). Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia spp.*) fruits and cladodes. *Journal of Arid Environments*, 46, 209-225.
- Sáenz, C. (2013a). *Opuntias* as a natural resource. In C. Sáenz, H. Berger, A. Rodríguez-Félix, L. Galleti, et al. (Eds.), *Agro-industrial utilization of cactus pear* (pp. 1-5). Roma: FAO.



- Sáenz, C. (2013b). Chemical composition and characteristics of *Opuntia* spp. In C. Sáenz, H. Berger, A. Rodríguez-Félix, L. Galletti, et al. (Eds.), *Agro-industrial utilization of cactus pear* (pp. 7-19). Roma: FAO.
- Sáenz, C. (2013c). Utilization of *Opuntia* spp. fruits in food products. In C. Sáenz, H. Berger, A. Rodríguez-Félix, L. Galletti, et al. (Eds.), *Agro-industrial utilization of cactus pear* (pp. 31-43). Roma: FAO.
- Sáenz, C. (2013d). Case studies on agro-industrial utilization of *Opuntia* species in several countries. In C. Sáenz, H. Berger, A. Rodríguez-Félix, L. Galletti, et al. (Eds.), *Agro-industrial utilization of cactus pear* (pp. 111-123). Roma: FAO.
- Sáenz, C. & Sepúlveda, E. (2013). Small-scale food production for human consumption. In C. Sáenz, H. Berger, A. Rodríguez-Félix, L. Galletti, et al. (Eds.), *Agro-industrial utilization of cactus pear* (pp. 57-87). Roma: FAO.
- Sáenz, C., Berger, H., Garcia, J. C., Galletti, L., Cortázar, V. G., & Higuera, I. (2006). Utilización agroindustrial del nopal. *Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO*, 162.
- Sepúlveda, E., Sáenz, C., Aliaga E., & Aceituno C. (2007). Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of Arid Environments*, 68, 534-545.
- Shao, D., Atungulu, G. A., Pan, Z., Yue, T., Zhang, A., & Li, X. (2012). Study of Optimal Extraction Conditions for Achieving High Yield and Antioxidant Activity of Tomato Seed Oil. *Journal of Food Science*, 77, E202-E208.
- Sim, K. S., Sri Nurestri, A. M. & Norhanom, A. W. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae) extracts. *Pharmacognosy Magazine* 6, 248–254
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymology*, 299, 152-178.
- Sovová, H., Galushko, A. A., Stateva, R. P., Rochová, K., Sajfřtová, M., & Bartlová, M. (2010). Supercritical fluid extraction of minor components of vegetable oils:  $\beta$ -Sitosterol. *Journal of Food Engineering*, 101, 201-209.
- Stevenson, D. G., Eller, F. J., Wang, L., Jane, J. L., Wang, T., & Inglett, G. E. (2007). Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed in 12 cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4005-4013.
- Stintzing, F. C. & Carle, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49, 175-194.

- Stintzing, F. C., Schieber, A., & Carle, R. (2001). Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *European Food Research and Technology*, 212, 396-407.
- Sudzuki, F. H. (1999). Anatomia y morfologia. In E. J. A. Jimenez, (Coord.) (Eds.), *Agroecologia, cultivo y usos del nopal* (pp. 29-36). Roma: FAO.
- Tirzitis, G. & Bartosz, G. (2010). Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica*, 57, 139-142.
- USDA, NRCS. 2009. The PLANTS Database (<http://plants.usda.gov>, consultado 8 de Fevereiro de 2014)
- Utkarsha, U., Shedbalkar, S., Adki, V., Jadhav, P., & Vishwas, A. B. (2010). *Opuntia* and Other Cacti: Applications and Biotechnological Insights. *Tropical Plant Biology*, 3, 136-150.
- Valente, L. M. M., Paixão, D., Nascimento, A. C., Santos, P. F. P., et al. (2010). Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chemistry*, 123, 1127-1131.
- Vessby, B., Uusitupa, M., Hermansen, K., Riccardi, G., et al. (2001). Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: the KANWU Study. *Diabetologia*, 44, 312-319.
- Vigueras, A. L. & Portillo, L. (2001). Uses of *Opuntia* species and the potential impact of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera:Pyralidae) in Mexico. *Florida Entomologist*, 84, 493-498.
- Von Holtz, R. L., Fink, C. S., & Awad, A. B. (1998).  $\beta$ -Sitosterol activates the sphingomyelin cycle and induces apoptosis in LNCaP human prostate cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 32, 8-12.
- Wahrburg, U. (2004). What are the health effects of fat? *European Journal of Nutrition*, 43, i6-i11.
- Wang, L. (2013). Properties of Manchurian apricot (*Prunus mandshurica* Skv.) and Siberian apricot (*Prunus sibirica* L.) seed kernel oils and evaluation asbiodiesel feedstocks. *Industrial Crops and Products*, 50, 838-843.
- Wang, L., Pan, B., Sheng, J., Xu, J., & Hu, Q. (2007). Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chemistry*, 105, 36-41.
- Wang, L. B., Yu, H. Y., He, X. H., & Liu, R. Y. (2012). Influence of fatty acid compositionof woody biodiesel plants on the fuel properties. *Journal of Fuel Chemistry and Technology*, 40, 397-404.
- Wang, R., Hanna, M. A., Zhou, W. W., Bhadury, P. S., et al. (2011). Production and selected fuel properties of biodiesel from promising non-edibleoils: *Euphorbia lathyris* L., *Sapium sebiferum* L. and *Jatropha curcas* L. *Bioresource Technology*, 102, 1194-1199.

Wasan, K. M., Najafi, S., Wong, J., Kwong, M., & Pritchard, P. H. (2001). Assessing plasma lipid levels, body weight, and hepatic and renal toxicity following chronic oral administration of a water-soluble phytostanol compound, FM-VP4, to gerbils. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4, 228-234.

Weber, E. (2003). *Invasive Plant Species of the world – A reference Guide of Environment Weeds* (pp. 290). Switzerland: CABI Publishing.

Weststrate, J. A. & Meijer, G. W. (1998). Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52, 334-343.

Wijendran, V. & Hayes, K. C. (2004). Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. *Annual Review of Nutrition*, 24, 597-615.

Wu, H., Shi, J., Xue, S., Kakuda, Y., et al. (2011). Essential oil extracted from peach (*Prunus persica*) kernel and its physicochemical and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 2032-2039.

Yeddes, N., Chérif, J. K., Jrad, A., Barth, D., & Trabelsi-Ayadi, M. (2012). Supercritical SC-CO<sub>2</sub> and Soxhlet *n*-Hexane Extract of Tunisian *Opuntia ficus indica* Seeds and Fatty Acids Analysis. *Journal of Lipids*, 1-6.

## ANEXOS

### Mix- Supelco

Metil butirato 4 wt. %	C4:0
Metil hexanoato 4 wt. %	C6:0
Metil octanoato 4 wt. %	C8:0
Metil decanoato 4 wt. %	C10:0
Metil undecanoato 2 wt. %	C11:0
Metil dodecanoato 4 wt. %	C12:0
Metil tridecanoato 2 wt. %	C13:0
Metil miristato 4 wt. %	C14:0
Metil miristoleato 2 wt. %	C14:1
Metil pentadecanoato 2 wt. %	C15:0
Metil cis-10-pentadecenoato 2 wt. %	C15:1 (cis-10)
Metil palmitato 6 wt. %	C16:0
Metil palmitoleato 2 wt. %	C16:1
Metil heptadecanoato 2 wt. %	C17:0
Metil cis-10-heptadecenoato 2 wt. %	C17:1 (Cis-10)
Metil estearato 4 wt. %	C18:0
Metil oleato 4 wt. %	C18:1
Metil elaidato 2 wt. %	C18:1 (trans – 9)
Metil linoleaidato 2 wt. %	C18:2 (trans,trans–9,12)
Metil linoleato 2 wt. %	C18:2
Metil linolenato 2 wt. %	C18:3
Metil γ-linolenato 2 wt. %	C18:3
Metil araquidato 4 wt. %	C20:0
cis-11-Eicosenóico ácido metil éster 2 wt. %	C20:1 (cis-11)
cis-11,14-Eicosadienóico ácido metil éster 2 wt. %	C20:2 (cis-11,14)
cis-8,11,14-Eicosatrienóico ácido metil éster 2 wt. %	C20:3 (cis-8,11,14)
cis-11,14,17-Eicosatrienóico ácido metil éster 2 wt. %	C20:3 (cis-11,14,17)
Metil araquidonato 2 wt. %	C20:4
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenóico ácido metil éster 2 wt. %	C20:5 (cis-5,8,11,14,17)
Metil heneicosanoato 2 wt. %        MSDS	C21:0
Metil beénato 4 wt. %	C22:0
Metil erucato 2 wt. %	C22:1 (cis-13)
cis-13,16-Docosadienóico ácido metil éster 2 wt. %	C22:2 (cis-13,16)
cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenóico ácido metil ester 2 wt.%	C22:6 (cis-4,7,10,13,16,19)
Metil tricosanoato 2 wt. %	C23:0
Metil tetracosanoato 4 wt. %	C24:0
Metil cis-15-tetracosenoato 2 wt. %	C24:1 (cis-15)

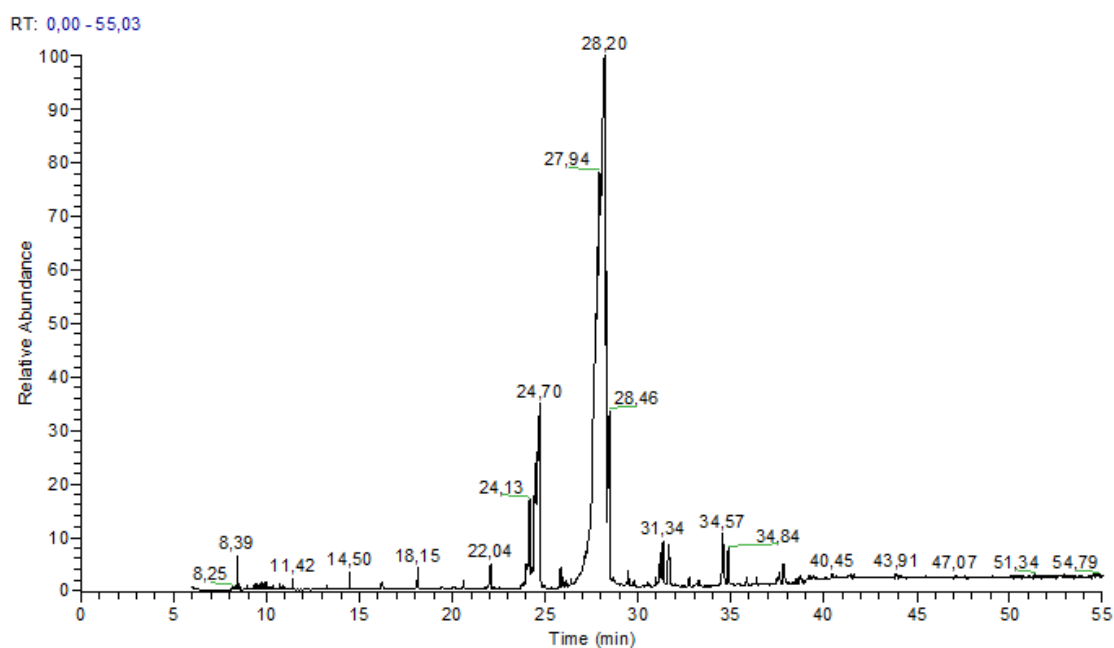


Figura 32 – Cromatograma de *Opuntia ficus-indica* (variedade laranja), método a quente, extraído com éter de petróleo.

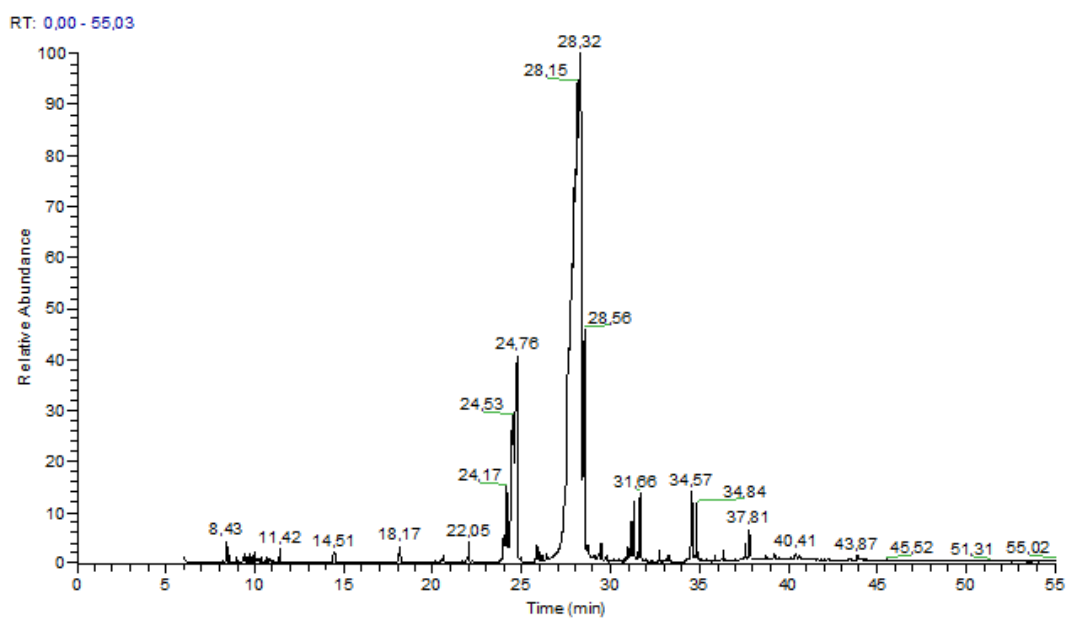


Figura 33 – Cromatograma de *Opuntia ficus-indica* (variedade laranja), método a frio, extraído com éter de petróleo.

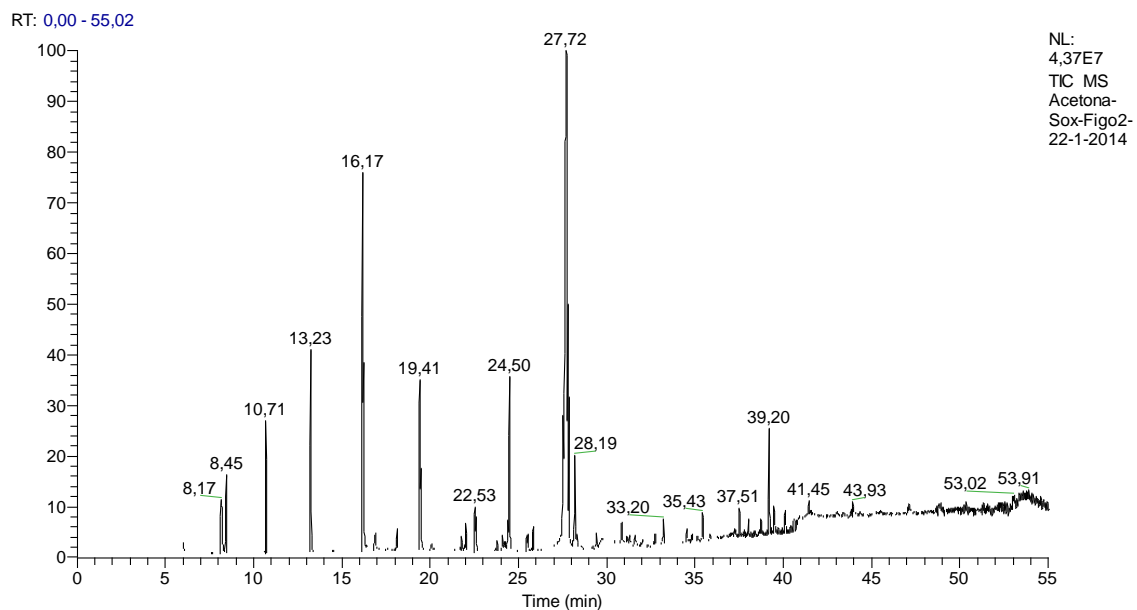


Figura 34 – Cromatograma de *Opuntia ficus-indica* (variedade laranja), método a quente, extraído com acetona.

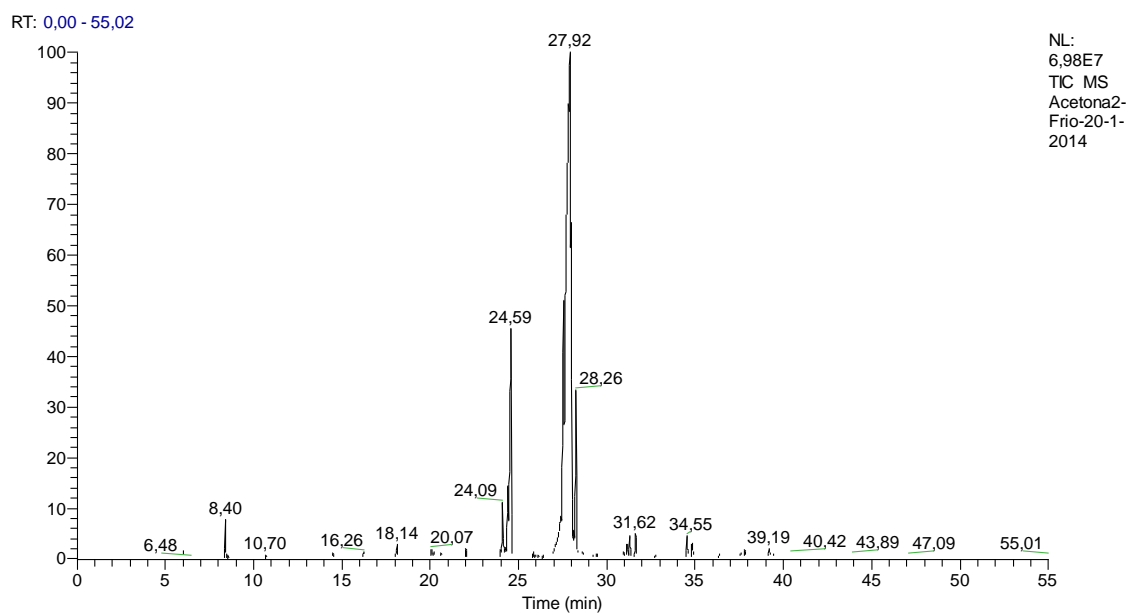


Figura 35 – Cromatograma de *Opuntia ficus-indica* (variedade laranja), método a frio, extraído com acetona.